

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

ISSN 0073-9855
RIALA6

Comemoração do
Centenário da Descoberta da
Doença de Chagas

e

Centenário da Descrição da
Leishmaniose Tegumentar Americana

Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE

Volume 69 suplemento 1, 2010



Governo do Estado de São Paulo
Secretaria de Estado da Saúde
Coordenadoria de Controle de Doenças
Instituto Adolfo Lutz

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Publicação semestral/Bi-annual publication
Solicita-se permuta/Exchange desired

ISSN 0073-9855

Volume 69 suplemento 1, 2010

2010

INSTITUTO ADOLFO LUTZ

Diretor Geral do Instituto Adolfo Lutz

Marta Lopes Salomão

Editor Chefe

Luís Fernando de Macedo Brígido

Editor Adjunto

Domingas Maria Aparecida Grispino Vieira Torres

Editores Assistentes

Adele Caterino-de-Araujo

Adriana Bugno

Luciana Juncioni de Arauz

Luzia Setuko Umeda Yamamoto

Maria Helena Iha

Márcia Liane Buzzo

Márcia Bittar Atuí

Neuza Kasumi Shirata

Núcleo de Acervo

Rocely Aparecida Bueno Moita

REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ
(Secretaria de Estado de Saúde)
São Paulo, SP - Brasil, 1941

1941-2010,
2010, 69 Suplemento 1

ISSN 0073-9855
RIALA6

(*) ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE BIBLIOTECÁRIOS. Grupo de Bibliotecários Biomédicos.
Normas para catalogação de publicações seriadas especializadas, São Paulo, Ed. Polígono, 1072.

Os artigos publicados na REVISTA DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ são indexados por Abstracts on Hygiene and Communicable Diseases, AGRINDEX, Analytical Abstracts, Bibliografia Brasileira de Medicina Veterinária e Zootécnica, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Food Science and Technology Abstracts, Index Medicus Latino-americano, LILACS SP: Saúde Pública, Microbiology Abstracts, Sumários Correntes Brasileiros, Toxicology Abstracts, Tropical Diseases Bulletin, Virology Abstracts e outros.

Acesso on line / on line access. Texto integral / full text. <http://www.ial.sp.gov.br>

Endereço / Address

Biblioteca do Instituto Adolfo Lutz

Av. Dr. Arnaldo, 355 - São Paulo / SP - Brasil

01246-902

Tel/Fax: (11) 3082-9939 - Email: rial@ial.sp.gov.br / rial@saude.sp.gov.br



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE

**Comemoração do
Centenário da Descoberta da
Doença de Chagas**

e

**Centenário da Descrição da
Leishmaniose Tegumentar Americana**

Secretário de Estado da Saúde
Dr. Luiz Roberto Barradas Barata

Coordenadora da Coordenadoria de Controle de Doenças
Dra. Clelia Maria Sarmiento de Souza Aranda

Diretora do Instituto Adolfo Lutz
Dra. Marta Lopes Salomão

Comissão Organizadora

Antonio Marcos de Aparecida Levy
Cezar Mendes de Assis
Helena Hilomi Taniguchi
José Eduardo Tolezano
Roberto Mitsuyoshi Hiramoto

Comissão Científica

André Gustavo Tempone Cardoso
Antonio Marcos de Aparecida Levy
Cezar Mendes de Assis
Helena Hilomi Taniguchi
Jose Eduardo Tolezano
Mirthes Ueda
Roberto Mitsuyoshi Hiramoto

Secretaria

Eleane La Rosa Garcia
Natália Nicodemus Orico
Rosana Cantini Tolezano

Monitoria

Alessandra Gutierrez
Débora Picanço Aureliano
Gabriela Bastos Cabral
Luana Portes Ozório Coelho
Sabrina de Bastos Alves da Silva

Comissão da Exposição Temática

Carlos Roberto Elias
Elizabeth Visone Nunes Westphalen
Júlia T.U. Yoshida
Kátia C.S.Rodrigues
Luciana Juncioni de Arduz
Luiz Eloy Pereira
Maria de Fátima Lereno de Araújo
Pedro Antonio Federsoni Junior
Sansão da Rocha Westphalen
Silvana Campos da Rocha Calixto

**Núcleo de Informática (Tecnologia da
Informação, Mídias Digitais e Cibercultura)**

Ernesto Figueiredo
Mário Medeiros
Patrícia Abreu
Valdevi Duarte

Comunicação Visual

Sylia Rehder (Núcleo de Comunicação da CCD)

Apoio

Telemedicina - Faculdade de Medicina/USP/SP
Antonio Roberto de Souza Ferreira
(Seção de Fotomicrografia do IAL)

**Comemoração do
Centenário da Descoberta da
Doença de Chagas**

e

**Centenário da Descrição da
Leishmaniose Tegumentar Americana**



Em 2009, o Brasil e toda a comunidade científica celebrou os centenários da descoberta da doença de Chagas e da descrição da leishmaniose tegumentar americana no Estado de São Paulo.

Durante estes 100 anos, a contribuição dos pesquisadores e das instituições de pesquisa do Estado de São Paulo em relação à doença de Chagas foi decisiva na geração de novos conhecimentos que se somaram a tantas outras contribuições advindas de pesquisas realizadas no Brasil e no exterior. Mediante o combate aos vetores, o desenvolvimento de técnicas e os reagentes que aperfeiçoaram o diagnóstico e o controle da transmissão e a realização do tratamento específico, chegou-se hoje à situação de controle dessa parasitose em terras paulistas.

Em 30 de março de 1909, Adolpho Lindenberg relata o encontro de corpúsculos, com aspectos de leishmania, examinando amostras de uma lesão recente de paciente da região oeste do Estado de São Paulo, identificando, assim, o agente da moléstia conhecida como botão do Oriente. Cabe destacar que no mesmo artigo, o professor Lindenberg afirma que: “Não se tardará em conhecer o vetor desse protozoário que, certamente, será um inseto”. Conquanto imensos progressos tenham sido feitos na área de patogênese, da imunologia e do tratamento, os avanços no controle desta infecção ainda são lentos. O padrão da transmissão da doença vem se alterando, e a terapêutica ainda deixa muito a desejar, tornando-se urgente apressar a transferência dos conhecimentos hauridos na pesquisa básica para a aplicada.

O Instituto Adolfo Lutz, nesta comemoração, objetivou homenagear os cientistas e os profissionais dos Hospitais, Institutos de Pesquisa e Universidades paulistas, dos mais variados escalões, que contribuíram e continuam contribuindo para o combate dessas doenças.

Para tanto, organizou o evento: “O Instituto Adolfo Lutz comemora o centenário da descoberta da doença de Chagas e da descrição da leishmaniose tegumentar americana”. Este encontro possibilitou reflexões sobre o estado atual e as perspectivas de avanços nos estudos dessas duas parasitoses.

Especial ênfase deve ser registrada à parceria com a área de Telemedicina – Disciplina de Informática Médica do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, e a total disponibilidade do Prof. Dr. Chao Lung Wen e sua equipe.

Com este evento inauguramos no âmbito do Instituto Adolfo Lutz e mesmo da Secretaria de Estado da Saúde, a utilização dessa nova e revolucionária estratégia de teleconferência que, certamente, deixará frutos e possibilitará avanços entre os serviços técnicos e científicos do IALutz e da saúde pública paulista.

Em relação à comunidade do IALutz, grande envolvimento e entrosamento de todos os níveis hierárquicos e dos vários setores na organização deste encontro, revelou ser possível a comunhão de diferentes perfis com grande produtividade.

O temário deste evento incluiu diferentes aspectos e linhas de pesquisa e serviço com a participação de renomados técnicos e cientistas de diferentes áreas de atuação e diferentes instituições.

A edição deste fascículo especial da Revista do Instituto Adolfo Lutz juntamente com um vídeo institucional contendo entrevistas com cientista paulistas, registro de memória viva, que fizeram parte da história recente da geração de conhecimentos sobre a leishmaniose tegumentar e a doença de Chagas, foram dois dos produtos resultantes deste evento. Este fascículo é dedicado à memória do Dr. Marcelo Osvaldo Álvares Corrêa, Médico e Pesquisador Científico, falecido em março de 2010, que, no Instituto Adolfo Lutz, construiu uma das mais edificantes páginas da saúde pública paulista.

Como Médica Sanitarista e Diretora do Instituto que leva o nome de Adolfo Lutz, outrora também Diretor do Instituto, e que, entre tantas descobertas, foi precursor no estudo dos tripanossomatídeos e vetores das leishmanioses, colaborando indiretamente com Carlos Chagas, Adolpho Lindenberg e outros, manifesto a satisfação pessoal com a realização deste evento.

Marta Lopes Salomão
Diretora Geral
Instituto Adolfo Lutz



Necrológio

Dr. Marcelo Oswaldo Álvares Corrêa e sua trajetória científica 1917 - 2010

Marcelo Oswaldo Álvares Corrêa nasceu em fevereiro de 1917, em Santos, São Paulo. Educou-se em São Paulo, formando-se em Medicina, na Universidade de São Paulo, em 1940. Desenvolveu atividades técnico-científicas, administrativas e didáticas no Instituto Adolfo Lutz, a partir da década de 40, onde permaneceu em atividade até meados da década de 80, com funções de Biologista, Médico, Pesquisador Científico do Estado de São Paulo, e cargos de Chefe da Seção de Parasitologia e Diretor Técnico de Divisão da Diretoria de Microbiologia e Diagnóstico. Durante mais alguns anos, voluntariamente, continuou no Instituto Adolfo Lutz, mesmo após sua aposentadoria, contribuindo com sua imensa bagagem técnico-científica, crítica e convivência.

Exerceu, ainda, a função de Assistente Extranumerário na Clínica Médica do Hospital das Clínicas de São Paulo, na década de 40. Colaborou em trabalhos científicos e didáticos de várias instituições do Brasil e da China. Participou de várias comissões científicas, nacionais e internacionais. Recebeu o Prêmio “Adolfo Lutz” de Ciências Biológicas, Bioquímicas e de Saúde Pública, por seu trabalho “Estudos sobre a *Leptospirose wolffii* em São Paulo”, e menção honrosa pelo trabalho sobre “Leptospiroses: aspectos clínicos e laboratoriais registrados no Hospital de Isolamento “Emílio Ribas” em São Paulo”.

Participou de cursos de extensão, com aulas e palestras sobre leptospirose. Orientou estagiários de nível superior para o aperfeiçoamento científico e profissional. Colaborou em livros como: “Doenças Infecciosas e Parasitárias”, com os capítulos “Leptospirose Humana” e “Leptospiroses”. Apresentou trabalhos em congressos nacionais e internacionais, bem como proferiu palestras, conferências, seminários, simpósios, mesas redondas, com publicações sobre leptospiroses, isosporoses, *Trichostrongylideos*, *Meloidogyne sp*, amebíases, esquistossomose mansônica, toxoplasmose, leishmanioses e doença de Chagas.

Estudou a ação de diversas drogas antiparasitárias em diferentes doses e vias de administração. Realizou diversos inquéritos epidemiológicos. Desenvolveu métodos para obtenção de antígenos e sua utilização em diagnóstico sorológico, assim como novas técnicas para o diagnóstico parasitológico. Avaliou tratamento para diversas parasitoses utilizando hidrato de piperazina para enterobíase e ascaridíase, assim como, tetramisole e forma levogira do tetramisole para a última; a ineficácia do óxido estanhoso, e, por via oral, cloridrato de Miracil D associado a óxido estanhoso para esquistossomose mansônica; tetraciclina, tetraciclina associada a 5,7-diiodo-8-hidroxiquinolina, bi-cloridrato de dialil-dietil-aminoetil fenol (camoform) para amebíase intestinal; ditiazanina para estrogiloidose e tricocefalose humana; glicobiarsol para tricurose e levamisole, em pacientes portadores de *Trichostrongylideos*.

Estudou o método de Rugai, Mattos e Brisola na pesquisa de larvas de nematoides nas fezes. Realizou inquéritos epidemiológicos em São Paulo e em outros estados brasileiros, verificando a incidência de verminoses, entoparasitos e protozooses; leptospiroses humanas, murinas, equinas, caninas e suínas. Os dados acima demonstram a grande

contribuição do Autor na implantação e aperfeiçoamento dos serviços de Parasitologia e Leptospiroses em Saúde Pública, no Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo e no Brasil.

O Dr. Marcelo participou ativamente da Comissão de Estudos da Leishmaniose do Departamento de Saúde do Estado de São Paulo, no período de 1939 a 1941, sob a Coordenação do Prof. Samuel Barnsley Pessoa, nessa época, Diretor do Departamento de Parasitologia, da Faculdade de Medicina, da Universidade de São Paulo. Este foi o tempo de trabalho desta Comissão de Estudos que, por razões de ordem política e ideológica, foi extinta em junho de 1941, exatamente no momento em que numerosas investigações, entre as quais as primeiras tentativas de “vacinação com suspensões mortas de formas promastigotas de *Leishmania braziliensis*” estavam em andamento.

Desses ensaios de vacinação restaram apenas as informações iniciais dando conta da utilização dessa “vacina” em cerca de 1500 pessoas de áreas endêmicas. As análises preliminares indicaram resultados promissores. Entre suas atribuições e responsabilidades, cabia ao Dr. Marcelo a obtenção de antígenos de *Leishmania braziliensis* por ação do ultra som, que foram utilizados em intradermoreação e, também, produção dos antígenos candidatos a vacina.

O Dr. Marcelo morreu em 3 de março de 2010. Por todos que o conheceram e com ele conviveram será lembrado como homem de profunda fé, de vasta cultura, dedicado à família e à Ciência. Médico de competência reconhecida, amigo leal e um cidadão de inigualável capacidade para o exercício da solidariedade, ao longo de sua vida e, até pouco antes de adoecer, o Dr. Marcelo praticava voluntariamente trabalho solidário de atendimento a instituições beneficentes, utilizando para isso seus períodos de justo descanso e finais de semana.

O Dr. Marcelo era reconhecido por todos como a memória viva de acontecimentos e fatos marcantes da Saúde Pública paulista, profundo conhecedor e estudioso da trajetória do Pesquisador e Cidadão Adolpho Lutz. Com o falecimento do Dr. Marcelo, último remanescente da Comissão de Estudos em Leishmaniose no Estado de São Paulo, encerra-se definitivamente um ciclo importante de descobertas e discussões desta Comissão.

Nós, do Instituto Adolfo Lutz, que tivemos o privilégio de compartilhar com ele, por anos, atividades profissionais no campo da Parasitologia, tivemos ainda a oportunidade única e última de registrar em vídeo parte dessa prodigiosa memória, particularmente aquela relacionada à sua atuação por décadas de trabalho, estudos e pesquisas em leishmaniose tegumentar. Esse registro está disponível na *home page* do Instituto Adolfo Lutz – <http://www.ial.sp.gov.br> -, ícone: Lançamento Vídeo Centenário – “Relatos & Fatos – A História em Construção da Pesquisa em Saúde Pública”. Trata-se de vídeo realizado com a finalidade de celebrar os centenários da descoberta da doença de Chagas e da descrição da leishmaniose tegumentar americana, 1909-2009.

Cezar Mendes de Assis¹,
Maria Conceição Rodrigues²,
Helena Hilomi Taniguchi¹,
Rosana Cantini Tolezano¹,
José Eduardo Tolezano¹

1 – Centro de Parasitologia e Micologia do Instituto Adolfo Lutz

2 – Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - cmdeassis@yahoo.com.br

Programa

Programa do Encontro

Dia 12/05/2009

8h30

Solenidade de abertura

9h - 9h50

Conferência:

Contextualização da Doença de Chagas e da Leishmaniose Tegumentar na História da Saúde Pública

Coordenador: Dra. Helena Hilomi Taniguchi (Instituto Adolfo Lutz/SES)

Dr. José Eduardo Tolezano (Instituto Adolfo Lutz/SES)

10h - 12h

Mesa Redonda:

Doença de Chagas e da Leishmaniose Tegumentar

Coordenador: Dra. Gerusa Maria Figueiredo (CCD/SES)

“Vigilância Epidemiológica” – Dra. Ruth Moreira Leite e Dra. Lisete Lages Cruz (CVE/SES)

“Reservatórios Naturais” – Dra. Helena Hilomi Taniguchi (Instituto Adolfo Lutz)

“Controle de Vetores” – Dra. Dalva Marli Valério Wanderley (Sucen/SES)

12h - 13h30

Exposição sobre Centenário

Projeções

Centro de Memória IAL - Anfiteatro IAL

Almoço

13h30 - 15h20

Mesa Redonda:

Clínica e Tratamento

Coordenador: Dr. Antonio Marcos de Aparecida Levy (Instituto Adolfo Lutz)

“Doença de Chagas” - Dr. Abílio Augusto Fragata Filho (Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia/SES)

“Leishmaniose Tegumentar” - Dr. Marcos Vinícius da Silva (Instituto de Infectologia Emílio Ribas/SES)

15h20 - 16h10

Conferência:

“Doença de Chagas e Leishmaniose Tegumentar”

Coordenador – Dr. Roberto Mitsuyoshi Hiramoto (Instituto Adolfo Lutz)

Dra. Maria Irma Seixas Duarte (Faculdade de Medicina/USP)

ENCERRAMENTO DO DIA

Dia 13/05/2009

8h30 - 9h20

Conferência:

Leishmaniose e Doença de Chagas: Perspectivas em um Mundo em Transformação

Coordenador: Dr. José Eduardo Tolezano (Instituto Adolfo Lutz)

Dr. Jeffrey Jon Shaw (Dep.Parasitologia/ICB/USP)

9h30 - 11h20

Mesa Redonda:

Diagnóstico Laboratorial

Doença de Chagas e Leishmaniose

Coordenador: Dra.Vera Lúcia Pereira Chioccola (Instituto Adolfo Lutz)

“Diagnóstico Parasitológico da Doença de Chagas”- Dra. Maria de Fátima Lereno de Araújo (Instituto Adolfo Lutz)

“Diagnóstico Sorológico da Doença de Chagas” - Dr. Antônio Walter Ferreira (Instituto de Medicina Tropical/USP)

“Diagnóstico Sorológico e Parasitológico da Leishmaniose Tegumentar”- Dra. Aparecida Helena Souza Gomes (Instituto Adolfo Lutz/Sorocaba)

“Diagnóstico Molecular”- Dra.Lucile Maria Floeter-Winter (Dep. Fisiologia/Instituto de Biociências/USP)

11h30 - 13h30

Exposição Sobre Centenário

Projeções

Centro de Memória do IAL - Anfiteatro IAL

Almoço

13h30 - 16h10

Mesa redonda:

“Pesquisa atuais em Doença de Chagas e Leishmaniose Tegumentar”

Coordenador: Dr.José Eduardo Tolezano (Instituto Adolfo Lutz)

“Desafios na Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos para Doenças Negligenciadas”

Dr. André Gustavo Tempone Cardoso (Instituto Adolfo Lutz)

“Saliva de Flebotomíneos na Infecção e Controle de Leishmania” - Dra.Márcia Dallastra Laurenti (Dep.Patologia/Faculdade de Medicina/USP)

“Hemócitos de Triatomíneos” - Dr. Antonio Marcos de Aparecida Levy (Inst. Adolfo Lutz)

“Eventos no Ciclo Celular de Trypanosoma cruzi”- Dra.Maria Carolina Quartim Elias Sabagga (Instituto Butantan)

ENCERRAMENTO

Resumos

CONTEXTUALIZAÇÃO DA DESCOBERTA DA DOENÇA DE CHAGAS E DA DESCRIÇÃO DO AGENTE ETIOLÓGICO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NA HISTÓRIA DA SAÚDE PÚBLICA

José Eduardo Tolezano, Antonio Marcos de Aparecida Levy - Pesquisadores Científicos Instituto Adolfo Lutz

A partir da segunda metade do século XIX, inicia-se na Europa e nos Estados Unidos um período de grande efervescência política, intelectual e social, em decorrência do fim de impérios mercantilistas e uma nova divisão do mundo ocidental.

Ao mesmo tempo, são introduzidos novos paradigmas sobre a origem de várias doenças:

- Demonstração científica de modelos de propagação das doenças por microrganismos através da realização de ensaios de especificidade etiológica resultantes dos processos de “criação experimental de doenças”. Os expoentes desse período, identificados com precursores dessa linha de pensamento são Robert Koch e, principalmente, Louis Pasteur. Trata-se da gênese da microbiologia e do início de grandes turbulências com o pensamento médico predominante de então;
- Demonstração da participação de insetos na veiculação de patógenos para os animais e para o homem, tais descobertas fortaleceram as pesquisas que objetivavam confirmar a existência de vetores animais na transmissão de doenças. Destacam-se os relatos de Leuckart & Melnikoff, na transmissão da tênia do cão pelo piolho (*Trichodectes canis*) que infesta esse animal; de Manson, sobre a possibilidade de mosquitos como transmissores de elefantíase na China; Ross sob orientação de Manson, na participação de mosquitos na transmissão da malária e, principalmente, a confirmação da teoria esboçada pelo pesquisador cubano Carlos Finlay e por ele apresentada em Washington, em 1881, na Conferência Sanitária Internacional, segundo a qual o agente causal da febre amarela seria transmitido pelo mosquito *Aedes aegypti*, o que somente viria a ser confirmado após longo período de descrédito, em 1900, pelos estudos empreendidos por Walter Reed, também em Cuba. O expoente dessa linha de pensamento específico é Patrick Manson, identificado como inspirador da escola de medicina tropical.

O início deste período é marcado pela busca quase frenética de microrganismos como agentes causais de doenças, de seus transmissores alados,

especialmente dos insetos sugadores de sangue e de alternativas terapêuticas para tratamento e prevenção de doenças, especialmente, após a comprovação do sucesso da vacina contra a raiva, o que favoreceu de forma definitiva o surgimento da nova era biomédica e da medicina experimental.

O senso de urgência acima referido dizia respeito à necessidade de responder rápida e objetivamente às demandas de saúde com o desenvolvimento e aplicação de conhecimentos gerados a partir de pesquisas científicas sobre os agentes infecciosos, seus vetores e sobre estratégias de controle e cura de doenças. Esse período marca o início da institucionalização das pesquisas na área da saúde. Por decisão de autoridades governamentais e segmentos mais esclarecidos e instruídos das sociedades europeias foram criados os Institutos de Pesquisa, cuja ação diferiria daquela praticada nas Universidades, então existentes há mais de dez séculos, principalmente pela urgência dos resultados, sendo forte o caráter público de suas atividades.

No Brasil, a virada do século XIX para o século XX é marcada pela abolição da escravidão, pela proclamação da República, pela imigração, pelo avanço do capitalismo industrial e das reformas urbanas. Numerosos inventos vão se incorporando à vida dos brasileiros. A Capital Federal e a cidade de São Paulo perdem suas feições provincianas e se maquam de metrópoles civilizadas. Tais modificações não teriam sido realizadas sem que fossem ideologicamente sustentadas pelos avanços da medicina e do pensamento médico, no nosso caso da medicina tropical. Por aqui também é o período da institucionalização das pesquisas e da organização do serviço sanitário.

A medicina do *fin du siècle* supõe as ideias do iluminismo e positivismo, trazendo em seu bojo as ideias do evolucionismo e do cientificismo para a prática dos trabalhos e do ensino médico. Era preciso educar a população para novos hábitos, reformar as cidades, pois o caos urbano era o responsável pelas epidemias. A teoria que predominava, até então, nos meios médicos e em vários segmentos da sociedade era a teoria miasmática, segundo

a qual as doenças eram transmitidas por miasmas que se originavam do ar fétido e cujo cheiro de podre traduzia-se em doenças da população. Aqueles pensadores dividiam-se entre os “contagionistas”, para quem as doenças se davam pelo contágio com outra pessoa doente ou com os objetos por ela utilizados, e os “infeccionistas”, para os quais a infecção se propagava por substâncias animais e vegetais podres que exalavam os “miasmas mórbidos”.

Esta teoria sofreria abalo que se tornaria definitivo a partir de 1877, quando, Louis Pasteur, na França, concluiu os estudos que revelaram que certas doenças eram transmitidas por pequenos seres vivos, os micróbios, lançando, assim, a teoria microbiana de doenças.

O alvorecer do século XX traz uma série de outros avanços nas doenças tropicais em terras brasileiras. Os cientistas brasileiros não ficaram distantes das ideias que circulavam na Europa. Adolpho Lutz, Oswaldo Cruz e Emílio Ribas estavam entre aqueles que rapidamente aderiram “à onda da baciloscopia” e da experimentação como forma de comprovar a origem de algumas doenças epidêmicas, principalmente depois que o pesquisador cubano Carlos Finlay, em 1881, propôs a tese que incriminava mosquitos como transmissores da febre amarela. Assim:

- Em 1899, Oswaldo Cruz, vindo do Rio de Janeiro, é acolhido por Ribas, Lutz, Vital Brazil, Victor Godinho, Eduardo Lopes e Luiz Faria para identificar e, rapidamente, combater a peste em Santos;
- Em 1902, após a emergência de um grande surto de febre amarela na zona cafeeira de Ribeirão Preto, Emílio Ribas pode superar as resistências locais quanto à teoria da transmissão vetorial da doença, impondo as medidas de controle: isolamento dos doentes; desinsetização domiciliar; destruição dos criadouros dos mosquitos; realização de obras de drenagem de rios, canalização de córregos e coleta de lixo como forma de reduzir a densidade dos mosquitos. Nessa mesma época, Ribas e Lutz aproveitam para realizar experimentos para a comprovação da transmissão vetorial da febre amarela, atuando eles mesmos, mais um assistente e três imigrantes italianos, como cobaias que se deixaram picar por mosquitos que anteriormente haviam picado doentes;
- Em 1903, Adolpho Lutz descreve a transmissão da malária em áreas florestais;
- Em 1905, Carlos Chagas é indicado por Oswaldo Cruz e, em três meses, controla um surto de malária que grassava entre trabalhadores da usina hidroelétrica que a Companhia Docas de Santos fazia construir na Serra de Santos. Carlos Chagas foi o cientista que primeiro apontou os mosquitos domésticos como vetores da malária e que a transmissão seria de caráter domiciliar, inaugurando, nesse episódio, a profilaxia da doença com base na luta contra os anofelinos adultos no interior das moradias;
- Em 1907, Adolpho Lutz e Vital Brazil descrevem a presença de *Trypanosoma equiperdum* como agente do “mal de cadeiras” ou “quebra bunda das cadeiras” em equinos de São Paulo e do Pará. Lutz conclui ainda que os transmissores deste patógeno eram moscas (tabanídeos) e que capivara deveria atuar como reservatório natural;
- Em 1908, Alphonso Splendore descreve a toxoplasmose em coelhos, quase simultaneamente à descrição do parasita feita por Nicolle e Manceaux em um roedor da Tunísia;
- No mesmo ano de 1908, Adolpho Lutz descreve a paracoccidiodomicose;
- Também em 1908, Pirajá da Silva assinala a presença de esquistossomose no Brasil.

A seguir, em 31 de março de 1909, na Revista Médica de São Paulo é publicado um editorial apresentando os trabalhos com a comprovação laboratorial da presença de *Leishmania* como agente causal da úlcera de Bauru, a leishmaniose tegumentar americana, descrita simultânea e independentemente realizada por Adolpho Lindenberg, do Instituto Bacteriológico, e Antonio Carini e Ulysses Paranhos, do Instituto Pasteur. Ambos reconheceram tratar-se do mesmo “micróbio” descoberto anos antes por Wright, na moléstia chamada de botão do Oriente observada no Egito.

Em 14 de abril de 1909, Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, trabalhando em Lassance, Minas Gerais, realiza aquele que, mesmo hoje, cem anos após a sua descoberta, é reconhecido como um dos mais importantes feitos da ciência brasileira, a descoberta da tripanossomíase americana, conhecida como a doença de Chagas. Caso único na história da medicina em que o mesmo pesquisador descreveu o inseto vetor, um novo protozoário agente etiológico e o ciclo da doença. Como reconhecimento de seu trabalho, Chagas recebeu quatro indicações ao prêmio Nobel de Medicina.

No contexto daquele cenário, 100 anos atrás, prevalecia na atuação dos cientistas brasileiros:

- A incorporação dos princípios da escola pasteuriana e da introdução da medicina tropical mansoniana no ensino médico;
- A inserção numa “rede de relações” com os mais importantes pesquisadores, principalmente, alemães, franceses e ingleses;
- A partir do reconhecimento político e público, a capacidade de influir junto aos governos estaduais e federal para a implantação de uma nova forma de pensar a formulação e execução de políticas públicas para a recuperação e preservação da saúde, como parte de um modelo de desenvolvimento;
- O entendimento da saúde como um bem coletivo com reflexos em todos os segmentos da sociedade;
- O desenvolvimento das pesquisas dentro dos Institutos Públicos de Pesquisa com financiamento oficial;
- A necessidade de contribuição inovadora no então emergente campo da medicina tropical e nos estudos das doenças transmitidas por insetos. Na maioria das vezes, os resultados alcançados trataram não apenas da descrição de novas doenças, mas desnudaram a verdadeira realidade sanitária e social do interior brasileiro.

Como herança desse período brilhante, os pesquisadores do século XXI deveriam nortear suas pesquisas pelo equilíbrio entre a independência do pensamento na busca de novos conhecimentos e tecnologias e o retorno científico para as demandas da saúde pública.

Referências Bibliográficas

- Almeida M. São Paulo na virada do século XX: um laboratório de saúde pública para o Brasil. *Tempo*. 2005; 19: 77-89.
- Altamirano-Enciso AJ, Marzochi MCA, Moreira JS, Schubach AO & Marzochi KBF. Sobre a origem e dispersão das leishmanioses cutânea e mucosa com base em fontes históricas pré e pós-colombianas. *Hist Ciênc Saúde*. 2003; 10: 853-882.
- Barata RB. Cem anos de endemias e epidemias. *Ciênc Saúd Coletiva*. 2000; 5: 333-345.
- Benchimol JL, Sá MR, Becker J, Gross T, Andrade MM, Ferreira Junior PCG et al. Adolpho Lutz e a história da medicina tropical no Brasil. *Hist Ciênc Saúde*. 2003; 10: 287-409.
- Benchimol JL. A instituição da microbiologia e a história da saúde pública no Brasil. *Ciênc Saúd Coletiva*. 2000; 5: 265-292.
- Camargo ACM. As contradições da política de saúde no Brasil. *S Paulo Perspectiva*. 2002; 16: 1-13.
- Camargo EP & Sant’Anna AO. Institutos de Pesquisa em Saúde. *Ciênc Saúd Coletiva*. 2004; 9: 295-302.
- Carini A. & Paranhos U. Identificação das úlceras de Bauru ao Botão do Oriente. *Rev Méd S Paulo*. 1909; 6: 111-116.
- Chagas C. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n.gen., n.sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1909; 1: 159-218.
- Dias JCP, Coura JR & Coutinho M. Carlos Chagas e a indicação ao prêmio Nobel. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=142> .
- Godinho V. Úlceras de Bauru. *Rev Méd S Paulo*. 1909; 6: 109-111.
- Kropf SP. Carlos Chagas e as campanhas contra a malária. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=33> .
- Lindenberg A. A úlcera de Bauru e o seu micróbio. *Rev Méd S Paulo*. 1909; 6: 116-120.
- Lutz A. Mosquitos e malária das florestas. In: Barata RB. Cem anos de endemias e epidemias. *Ciênc Saúd Coletiva*. 2000; 5: 333-345.
- Lutz A. Estudos e observações sobre o quebra bunda ou peste das cadeiras. *Diário Oficial*, Ano XII. 1907; 4.780: 355, Belém, Pará. In: Jansen G. Contribuição ao estudo do Mal de Cadeiras na Ilha de Marajó. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1941; 36: 347-363.
- Lutz A. Uma micose pseudococcídica localizada na boca e observada no Brasil. Contribuição ao conhecimento das hiphoblastomycoses americanas. *Bras Med*. 1908; 22: 221-224.
- Nicolle C & Manceaux L. Sur une infection a corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. *C R Acad Sci*. 1908; 147: 763-766.

Nunes ED. Sobre a história da saúde pública: idéias e autores. Ciênc Saúd Coletiva. 2000; 5: 251-264.

Nunes ED. Sobre a história da saúde pública: idéias e autores. Ciênc Saúd Coletiva. 2000; 5: 252-264.

Pirajá da Silva MA. Contribuição ao estudo da Shistosomíase na Bahia. Brás Med. 1908; 22: 281-282.

Ribas E. A extinção da febre amarela no estado de São Paulo e na cidade do Rio de Janeiro. Arq Hig Saúd Pub. 1909; 1: 21-28.

Sanjad N. Da 'abominável profissão de vampiros': Emílio Goeldi e os mosquitos no Pará. Hist Ciênc Saúde. 2003; 10: 85-111.

Splendore A. Um nuovo protozoa parassita dei conigli incontrato nelle lesioni anatomiche d'uma malattia Che ricorda in monti ponti il kala-azar dell'uomo. Rev Soc Sci. 2003; 3: 109-112.

DOENÇA DE CHAGAS – ANTIGOS E NOVOS DESAFIOS DE UMA DOENÇA CENTENÁRIA

Ruth Moreira LEITE: ruthml@gmail.com

Divisão de Zoonoses - Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac” – Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo

Resumo: Revisão bibliográfica de artigos publicados na literatura, e de material produzido pelas autoridades sanitárias responsáveis pelo controle da Doença de Chagas em São Paulo, no Brasil e no mundo. Essas fontes justificam a importância da vigilância epidemiológica dos casos agudos da Doença de Chagas neste momento em que já foi atingido o controle da transmissão pelo *Triatoma infestans*, porém, apontam para novos problemas que a vigilância epidemiológica terá que enfrentar, cuja solução ainda não está tão bem estudada. Apresenta, ainda, a necessidade de implantação da vigilância de pacientes coinfectados com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), porque podem apresentar reativação da doença, o que também se verifica em outros casos de imunossupressão, como nos transplantados. Discute-se ainda a necessidade de registro dos casos com a forma indeterminada e crônica da doença para fins de planejamento e previsão de medicamentos necessários.

Palavras-chave: Chagas, vigilância epidemiológica, controle entomológico, cardiopatia chagásica, benznidazol, Consenso Brasileiro em Doença de Chagas

Introdução

A doença de Chagas é uma infecção parasitária crônica sistêmica causada pelo *Trypanosoma cruzi*. Em 20 a 30% dos indivíduos infectados, a doença resulta em cardiopatia severa ou megaloesôfago/megacólon. Um grande número de reservatórios vertebrados e insetos triatomíneos participam da cadeia de transmissão, o que torna impossível a erradicação da doença. A doença continua a representar um risco à saúde de aproximadamente 28 milhões de pessoas, principalmente na América Latina (do México até Américas Central e do Sul, incluindo 21 países). A estimativa do número de pessoas infectadas varia de 16 milhões a 7.694.500. A estratégia de controle é baseada na vigilância entomológica, triagem sistemática de doadores de sangue em países endêmicos, detecção e tratamento de transmissão congênita e tratamento de crianças infectadas e casos agudos¹.

O Brasil recebeu o certificado internacional de eliminação da transmissão domiciliar da doença de Chagas pelo *Triatoma infestans* em 2006, depois de um esforço extra para eliminação de alguns focos residuais de infestação em alguns estados do Nordeste. É obrigatória a triagem sorológica para doença de Chagas em todo o sangue utilizado para transfusão no território nacional. Já é feita a detecção de transmissão congênita. O tratamento de crianças e casos agudos tem sido realizado regularmente. O controle de transmissão vetorial da doença de Chagas no estado de São Paulo ocorreu ainda antes, em meados da década de 1970². Em março de 2000 na IX Reunião da Comissão intergovernamental para eliminação de *Triatoma infestans*, instalada na fundação Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro, o Estado de São Paulo recebeu a certificação de eliminação do *T. infestans* e da interrupção da transmissão vetorial³.

Mais recentemente, houve a emergência de doença de Chagas por transmissão oral, principalmente na região Amazônica, região não considerada endêmica para Chagas anteriormente. Isto representou mais um desafio para o controle da doença, porque as técnicas e instrumentos utilizados anteriormente não se aplicam nos casos de transmissão oral⁴.

Portanto, ainda restam tarefas importantes a enfrentar, como: manter a transmissão sob controle, avaliar e controlar o risco de reinfestação por vetores secundários, controlar o risco de transmissão por transfusão em locais onde a doença nunca foi endêmica, necessidade de melhores técnicas de diagnóstico e previsão de evolução da doença; vencer as limitações das drogas existentes para tratamento, desenvolvimento de novas drogas, progressos em técnicas e instrumentos para tratamento de doença cardíaca e digestiva.

Muito tem sido publicado em relação à vigilância entomológica da doença de Chagas. No entanto, são escassos os estudos sobre a enfermidade humana e a vigilância epidemiológica. O controle da doença sempre foi baseado no controle do vetor, já que a doença é frequentemente assintomática ou oligossintomática e os casos crônicos não refletem condições de transmissão no momento em que são diagnosticados. No entanto, no Estado de São Paulo em que o controle vetorial já está em fase de consolidação, a triagem do sangue é feita universalmente e a transmissão está praticamente interrompida (dados do último inquérito sorológico em crianças abaixo de 5 anos, ainda não publicados). É necessário encontrar diretrizes e metas que permitam uma vigilância epidemiológica eficiente da doença, com uma boa relação custo/benefício.

Material e Métodos

Foram pesquisados os termos *doença de Chagas, vigilância e tratamento* através da rede mundial de computadores (Internet). Foram analisados *sites* das instituições governamentais voltados para controle de doenças de notificação compulsória, material de orientação produzido pelas agências sanitárias nacionais e internacionais responsáveis pelo controle da doença de Chagas e outras publicações relativas ao assunto. Foi utilizado, ainda, o material distribuído aos gerentes estaduais do Programa de Controle da doença de Chagas resultantes do trabalho desses gerentes em seus respectivos estados e, também, pela Coordenação Nacional do Programa, no Ministério da Saúde.

Resultados

“Durante quase quarenta anos, depois da sua descrição inicial, a doença de Chagas permaneceu como entidade um tanto confusa quanto ao seu quadro clínico e importância médico-sanitária. Ainda que a forma aguda da doença já estivesse bem definida, a forma crônica, tal como era descrita pela Escola de Manguinhos, confundia-se com outras patologias, notadamente o bócio endêmico, cujo agente causal Chagas afirmava ser o *T. cruzi*, a despeito das evidências contrárias”⁵.

Em 1913 ou 1914 foram descobertos os primeiros doentes no estado de São Paulo⁶. Coube a Bayma (1913), e logo depois a Carini e Maciel (1914), a descoberta e da infecção humana entre nós, por meio da coleta de sangue de jovens e inoculação em cobaias para posterior exame anátomo-patológico de amostras dos tecidos. Detectada a infecção de pessoas na região de Ribeirão Preto era necessário conhecer a distribuição dos transmissores, o que foi feito por Carini e Maciel (1914) e de maneira mais consistente por Gomes (1918)⁷. Isso se deu ainda na região de Ribeirão Preto, sendo os casos associados com a expansão da fronteira agrícola (produção de café). Até 25 anos depois da descoberta tinham sido descritos apenas 34 casos agudos da doença, sendo 29 no Brasil. Em 1941, Rosenfeld e Cardoso conseguiram reunir apenas onze casos descritos em São Paulo.

Isso mostra a dificuldade de identificação dos casos na forma aguda, o que persiste até hoje. A comprovação de um caso agudo de doença de Chagas só pode ser feita com o exame parasitológico (em gota espessa, com enriquecimento ou hemocultura). A sorologia e o xenodiagnóstico não são suficientes para comprovar um caso agudo da doença⁸. Além disso, logo ficou patente que a proporção de doentes com a forma aguda era muito pequena perto do número de doentes crônicos. Havia, ainda, uma dificuldade muito grande em se associar a infecção pelo *Trypanossoma cruzi* aos quadros crônicos da doença, em que a parasitemia é muito baixa ou até inexistente. A caracterização da doença feita inicialmente por Carlos Chagas, que incluía o bócio endêmico como característica da doença, também prejudicou a caracterização do quadro crônico e a avaliação da verdadeira magnitude do problema em termos de saúde pública. Foi em 1935 que Cecílio Romana fez a efetiva caracterização da parasitose com dimensões continentais. E havia pouco a fazer em relação à transmissão, dadas as condições precárias em que vivia a população rural.

Com o aparecimento do inseticida residual DDT (depois da segunda Grande Guerra) e do BHC, em 1948, tornou-se factível propor a vigilância e o controle entomológicos do principal vetor da doença de Chagas, o *Triatoma infestans*. Inicialmente, isso foi feito em conjunto com a Campanha da Erradicação de Malária. Depois, o controle passou por outras fases, atingindo finalmente a atual fase de consolidação⁹. Ainda que a intervenção direta do homem tenha sido significativa na interrupção da transmissão natural, ela também se deve a outros fatores: o desenvolvimento

econômico e social, o aumento da renda *per capita* no meio rural, a melhoria da habitação e saneamento, a elevação do nível de escolaridade da população e o uso de inseticidas, além do êxodo rural¹⁰.

No início do século XX, com a descrição de uma reação sorológica (fixação de complemento) por Machado e Guerreiro, tornou-se possível fazer inquéritos sorológicos. De 1968 a 1972 foi feito inquérito sorológico em Minas Gerais, incluindo escolares de 5 a 14 anos, entre os quais foram coletadas 50.000 amostras. É de 1975 o projeto de um mapa da distribuição nacional dos casos de doença de Chagas. De 1990 a 1999 foi feito um inquérito amostral¹¹, incluindo todas as faixas etárias, em que se constatou uma maior porcentagem de positividade em pessoas com 70 anos e mais (7,64%). Esses dados já mostravam uma redução da contaminação de novos casos, que deveriam aparecer entre crianças, com um predomínio de doentes crônicos, com faixas etárias mais avançadas.

Em 1987, Julio Litvoc¹² estudou atestados de óbito do ano de 1987, encontrando que a doença de Chagas foi responsável por 0,90% dos óbitos daquele ano, dado que mantinha a cifra de 1977. O cálculo de anos potenciais de vida perdidos revelou 1,1% para doença de Chagas, em comparação com 2,4% para insuficiência coronariana, demonstrando a importância relativa da forma crônica da doença na morbimortalidade no Estado de São Paulo. Segundo a OPAS¹³, seriam em torno de 3 milhões de casos de doença de Chagas no Brasil, do Maranhão ao Rio Grande do Sul. Segundo o Relatório do Grupo de Trabalho Científico sobre doença de Chagas, atualizado em 2007, seriam 7.694.500 pessoas infectadas, representando uma redução de 50% em relação a 1990. O número de novos casos por transmissão vetorial seria de 41.200 por ano (7,775 por 100.000) e o número de casos novos de doença de Chagas congênita, por ano, seriam 14.285. Esses dados são referentes aos 21 países considerados endêmicos.

Tabela 1. Alterações nos parâmetros epidemiológicos e redução na incidência de doença de Chagas devido à interrupção de transmissão: 1990, 2000, 2006¹⁴

Parâmetros epidemiológicos	1990	2000	2006
Óbitos anuais	> 65.000	21.000	12.500
Casos de infecção humana	30 milhões	18 milhões	15 milhões
Novos casos por ano	700.000	200.000	41.200
População sob risco	100 milhões	40 milhões	28 milhões
Número de países	21	21	21

Fonte: TDR/PAHO/WHO

Apesar dessa importância notória da doença no Brasil, e nos outros países da América Latina e do Caribe, o número de casos humanos é apenas uma estimativa. Isso se explica porque o doente não é, em geral, fonte de infecção para novos casos (a parasitemia nos casos crônicos é baixa)¹⁵. Além disso, não existia (e ainda não existe) tratamento específico eficaz¹⁶, os doentes eram (e são), em geral, pessoas de baixo extrato sócio-econômico e a doença não acomete pessoas de países desenvolvidos, exceto, mais recentemente, com os casos isolados adquiridos por transfusão de sangue. É esta soma de fatores que faz da doença de Chagas uma das doenças classificadas como negligenciadas, ao lado da leishmaniose, da doença do sono, da esquistossomose, entre outras.

A vigilância entomológica e o controle dos vetores se revelaram extremamente eficazes para o controle da doença. Somados ao reforço de urbanização da população rural e à melhoria das condições de habitação no Estado de São Paulo, tiveram como resultado a ausência praticamente absoluta de sorologias positivas para doença de Chagas em menores de 5 anos no último inquérito. Com o decorrer do tempo, desde o controle da transmissão vetorial, passamos a não ter mais mulheres em idade fértil portadoras do *T. cruzi*, o que praticamente eliminou também a transmissão

vertical da doença. Paralelamente a isso, foi implementada a triagem do sangue, que se tornou praticamente universal no Brasil a partir da década de 1980, levando à eliminação quase completa da transmissão por esta via. Estima-se que a soropositividade em bancos de sangue em São Paulo oscile entre 0,5% e 2% e que entre 12% a 20% dos receptores de sangue infectado adquiram a doença¹⁷. Isto passou a representar mais recentemente um problema nos países não endêmicos devido aos fluxos migratórios. Também assumiram importância as reativações da doença de Chagas decorrentes de imunodeficiência (como no caso dos pacientes co-infectados HIV e Chagas) e de transplantes.

Quando o desafio do controle da transmissão parecia vencido, assumem importância as outras formas de transmissão, como oral e por transplante. E esses casos só podem ser identificados com a vigilância epidemiológica, não mais exclusivamente a entomológica¹⁸. Isso não quer dizer que a manutenção da vigilância entomológica nesta fase de consolidação não seja importante. É um duplo desafio imenso. Apesar da forma aguda da doença de Chagas já ser de notificação compulsória em São Paulo há mais de uma década, foi em 2006 que o Ministério da Saúde editou uma portaria tornando a notificação obrigatória em todo o território nacional¹⁹. A notificação é feita através do mesmo sistema utilizado para as outras doenças de notificação compulsória (SINAN), um sistema informatizado de notificação e investigação *on-line*, implantado no Brasil a partir de 1998. Este sistema depende da notificação dos municípios que, por sua vez, depende dos médicos que diagnosticam a doença. É importante lembrar que nunca se deu muita ênfase ao diagnóstico e tratamento da fase aguda da doença de Chagas porque, mesmo quando a transmissão vetorial domiciliar era intensa, a descoberta de um caso agudo sintomático já era um evento muito raro. As novas gerações de médicos, principalmente no Estado de São Paulo, onde a transmissão vetorial está controlada desde meados da década de 1970, tiveram notícia da existência de casos agudos de doença de Chagas quase como se fosse um folclore. Portanto, a chance de se fazer um diagnóstico, exceto em casos pertencentes a um surto de casos de transmissão oral ou em transplantados, é muito pequena.

Os casos agudos da doença, até a implantação do SINAN para Chagas, eram objeto apenas de publicações com relato de caso. Desde 2005 (quando doença de Chagas aguda passou a ser notificada de forma mais consistente através do SINAN), temos registrados apenas 5 casos de doença aguda em São Paulo: 1 caso do surto de Santa Catarina em 2005; 2 casos em 2006 (uma criança com transmissão provavelmente vetorial no município de Itaporanga e um caso por transplante de órgão em Ribeirão Preto); 1 caso em 2007 por transplante; e 1 possível caso congênito, ainda em investigação, na cidade de São Paulo (mãe proveniente de outro estado). A vigilância desses casos agudos não tem se traduzido em medidas de controle da doença como ocorria no passado em relação ao vetor ou como se verifica no caso de surtos de casos agudos. Não se consegue, por meio da notificação desses casos agudos isolados, nenhum indicador da presença de transmissão no local. Quando o vetor responsável pela maior parte da transmissão era intradomiciliar, o controle dos vetores era capaz de controlar a doença. Agora que os vetores responsáveis seriam os que participam do ciclo silvestre da doença, e o homem é um participante ocasional, não existe uma correlação estreita entre a ocorrência de um caso agudo e as medidas a serem adotadas em relação ao vetor.

O tratamento também representa um desafio à parte. Vários autores têm demonstrado, em ensaios clínicos, o efeito do tratamento específico na fase crônica recente (crianças abaixo dos 15 anos de idade), com uma eficácia maior do que 60% mediante provas sorológicas e parasitológicas como critérios de cura. Nos últimos 15 anos, tem sido observado um aumento do uso de outras técnicas para demonstrar mais precocemente a cura parasitológica. Uma delas é uma redução significativa da concentração plasmática de p-seletina (molécula de adesão), a soroconversão negativa de anticorpos contra antígenos do estágio tripomastigota F29, F2/3, AT24 e as técnicas parasitológicas, como PCR. Isto permitiu que as autoridades de saúde pública dos países endêmicos introduzissem alterações nas orientações para tratamento específico da infecção por *T. cruzi*, aplicando o tratamento através dos serviços de saúde. O nifurtimox (1972) e o benznidazol (1974) são aceitos praticamente por todas as autoridades como quimioterapia específica contra *T. cruzi*. Essas drogas começaram a ser usadas para fase aguda e, mais tarde, para fase crônica em população infantil e jovem. A meta do tratamento específico é eliminar o parasita para reduzir a probabilidade de desenvolver patologia cardíaca ou digestiva.²⁰ Por outro lado, junto às agências internacionais são encontrados vários trabalhos em andamento sobre diagnóstico, tratamento e critérios de cura, incluindo alguns realizados no Brasil e

até mesmo em São Paulo. Esses trabalhos visam a esclarecer o papel do benznidazol, que sempre foi considerado totalmente ineficaz fora da fase aguda e de eventuais reativações, além de ser potencialmente tóxico, especialmente em adultos. A partir desses trabalhos, e também das ações adotadas pela ONG “Médicos sem Fronteiras” em países da América do Sul e Caribe, já foram alteradas algumas recomendações para tratamento dos chagásicos. Atualmente se considera obrigatório o tratamento dos agudos, aconselhável o tratamento de crônicos na forma indeterminada, especialmente se for recente (< ou igual a 18 anos), e aceitável o tratamento da forma crônica com comprometimento orgânico inicial, especialmente em protocolos de pesquisa clínica. Ainda é necessário pesquisar novas formas de se fazer o controle de cura para que se possa realmente avaliar a eficácia dos diversos tratamentos. O tratamento de pacientes com formas crônicas sintomáticas avançadas com benznidazol é bastante discutível e não existem trabalhos controlados a respeito. Considerando que existe apenas um laboratório produtor deste medicamento no mundo, situado no estado de Pernambuco, seria interessante saber qual seria o público alvo desta medicação.

Discussão

Identificados os novos desafios propostos por esta doença, resta determinar qual seria a tarefa da vigilância epidemiológica nesse enfrentamento. Não se questiona a importância de manter a vigilância sobre possíveis casos agudos da doença, que podem indicar a existência de surtos (transmissão oral), que exigem intervenção imediata, ou mesmo a “ponta do iceberg” de uma transmissão vetorial por espécies silvestres ou semidomiciliadas. Também não se discute a necessidade de se expandir a vigilância para os coinfectados Chagas e HIV, dado que essa combinação pode levar, e tem levado, à reativação da doença. Esta vigilância acompanha a fase de consolidação do controle entomológico, em que se descreveram novos nichos ecológicos do vetor e dos reservatórios. A discussão é em torno da necessidade de estender a vigilância aos casos em forma indeterminada, principalmente os “recentes” (menos de 18 anos desde a transmissão). Com a comprovação, através de estudos multicêntricos controlados, de que é possível retardar o aparecimento do acometimento de órgãos internos, típicos da fase crônica da doença, por meio do tratamento parasitológico dos portadores, principalmente quando isso ocorre menos de 12 anos depois da contaminação, fica estabelecida a necessidade de ser fornecido medicamento específico para esse número ainda desconhecido de portadores da doença de Chagas.

Conclusão

Cem anos depois da descoberta da doença de Chagas, e trinta depois do controle da transmissão vetorial domiciliar da doença no estado de São Paulo, ainda temos desafios a serem vencidos, tanto em relação aos vetores quanto em relação ao controle da doença. Em relação aos vetores, temos pela frente a tarefa de manter as residências livres dos triatomíneos, tanto os domiciliados quanto aqueles que possam vir a se domiciliar, em virtude das transformações do meio ambiente provocadas pelo homem. Em relação aos casos agudos, temos que manter o diagnóstico presente no diagnóstico diferencial dos médicos, principalmente em áreas onde a doença já foi endêmica, para que algumas vidas não sejam perdidas desnecessariamente. Quanto aos casos em forma indeterminada, o desafio será encontrar tratamentos que possam curar, ou pelo menos adiar, ou evitar, o desenvolvimento das formas crônicas da doença. É o desafio que enfrentam todas as doenças negligenciadas, devido ao pequeno lucro previsto para um medicamento a ser consumido pelas pessoas mais carentes dos países menos desenvolvidos e, além disso, destinado a um número que se espera, constantemente, decrescente de pacientes. É o desafio da intervenção ativa em uma doença negligenciada que tem uma tendência natural a desaparecer com o tempo, à medida que os portadores forem envelhecendo e morrendo.

Agradecimentos

SUCEN – Superintendência de Controle de Endemias

CVE – Centro de Vigilância Epidemiológica “Professor Alexandre Vranjac”

MS – Ministério da Saúde – SVS – Coordenação do Programa de Controle da Doença de Chagas

TDR/GTC/09. World Health Organization on behalf of the Special Program for Research and Training in Tropical Diseases; 2007. Grupo de Trabalho Científico sobre a doença de Chagas, 17 a 20 de abril de 2005. Disponível em: www.who.int/tdr.

Rocha e Silva EO. Coletânea. Silva RA, Carvalho ME, Rodrigues VLCC [organizadores]. Disponível em: www.sucen.sp.gov.br/doencas/chagas/textochagaspro3.htm.

Wanderley DMV. Coletânea. Silva RA, Carvalho ME, Rodrigues VLCC [organizadores]. Disponível em: http://www.sucen.sp.gov.br/doencas/chagas/texto_chagas_pro5.htm.

Organização Pan-Americana da Saúde - OMS. Doença de Chagas - Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de chagas aguda transmitida por alimentos. 2009.

Silva LJ. A Evolução da Doença de Chagas no Estado de São Paulo. São Paulo: Editora HUCITEC, 1999. p.144.

Bayma T. Moléstia de Carlos Chagas: notas sobre sua verificação parasitológica no homem, em São Paulo. Ver Méd São Paulo. 1914; 17:3.

Rocha e Silva EO. Coletânea. Silva RA, Carvalho ME, Rodrigues VLCC [organizadores]. Disponível em: http://www.sucen.sp.gov.br/doencas/chagas/texto_chagas_pro3.htm

Rocha e Silva EO. Coletânea. Silva RA, Carvalho ME, Rodrigues VLCC [organizadores]. Disponível em: www.sucen.sp.gov.br/doencas/chagas/textochagaspro3.htm.

Pôster. In: Reunião Nacional dos Programas Estaduais de controle da Doença de Chagas, de 20 a 22 abr 2009; Belém, Pará, BR.

Rocha e Silva et al. Doença de Chagas: atividades de controle dos transmissores no estado de São Paulo, Brasil. Ver Bras Malariol Doenç Trop. 1979; 31: 99-109. http://www.sucen.gov.br/base_dados/texto_tabelas_chagas.htm

Litvoc J. Doença de Chagas e Processo Migratório no Estado de São Paulo [dissertação de mestrado]. São Paulo: Depto. De Medicina Preventiva, FMUSP); 1977.

OPAS – www.paho.org/commor/Display.asp?Lang=E&RecID=4470

TDR/GTC/09. World Health Organization on behalf of the Special Program for Research and Training in Tropical Diseases; 2007. Grupo de Trabalho Científico sobre a doença de Chagas, 17 a 20 de abril de 2005. Disponível em: www.who.int/tdr.

Brasil. Ministérios da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância Epidemiológica. Brasília: Ministério da Saúde. 2005; 272/296: 6. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/Guia_Vig_Epid_novo2.pdf

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em Saúde. Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. Rev Socied Brasil Med Trop. 2005; 38: (supl III). Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/consenso_chagas.pdf

TDR/GTC/09. World Health Organization on behalf of the Special Program for Research and Training in Tropical Diseases; 2007. Grupo de Trabalho Científico sobre a doença de Chagas, 17 a 20 de abril de 2005. Disponível em: www.who.int/tdr.

Organização Pan-Americana da Saúde - OMS. Doença de Chagas - Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de chagas aguda transmitida por alimentos. 2009

Organização Pan-Americana da Saúde - OMS. Doença de Chagas - Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de chagas aguda transmitida por alimentos. 2009

TDR/GTC/09. World Health Organization on behalf of the Special Program for Research and Training in Tropical Diseases; 2007. Grupo de Trabalho Científico sobre a doença de Chagas, 17 a 20 de abril de 2005. Disponível em: www.who.int/tdr.

VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO ESTADO DE SÃO PAULO

Lisete Lage Cruz. Médica pediatra e sanitarista da Divisão de Zoonoses do Centro de Vigilância Epidemiológica "Alexandre Vranjac" da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo

Introdução

As leishmanioses são consideradas zoonoses parasitárias que se caracterizam por diversas manifestações patológicas, expressas nas suas formas clínicas e na sua gravidade. Estão, segundo a Organização Mundial de Saúde, entre as seis doenças tropicais de maior relevância mundial.

No final do século XX, observou-se um aumento da prevalência das leishmanioses.

Histórico

ALTA é considerada autóctone do continente americano, mas não do território nacional. No Brasil, há relatos da doença desde 1827. No Estado de São Paulo, a população inicialmente acometida era constituída por trabalhadores rurais. As primeiras descrições da doença no estado são datadas de 1895. Em 1905, iniciou-se a construção da estrada de ferro Noroeste do Brasil. Em 1908, observa-se uma epidemia de LTA entre os operários da estrada de ferro. Posteriormente, a doença expande-se para as áreas de desmatamento, destinadas à construção de estradas de ferro, plantação de café e criação de vilas residenciais na região da Alta Sorocabana e Alta Paulista. Depois do ciclo de expansão do café em São Paulo, diminui o interesse pela LTA, os autores da época consideravam que, uma vez cessada a derrubada de mata, haveria o desaparecimento de casos novos.

A partir de 1957, temos a detecção da transmissão da LTA na região do Vale do Ribeira, sendo esta uma das áreas mais estudadas.

Nos últimos anos, houve uma redução significativa da área de floresta no estado de São Paulo. Os surtos da doença já não ocorrem somente em áreas onde se processam desmatamento, construção de estrada e instalação de frentes de trabalho. Hoje temos ocorrência da doença em áreas antigas de transmissão, e no restante de mata, provavelmente por causa de modificações introduzidas no meio ambiente pelo homem.

Situação epidemiológica

A Leishmaniose Tegumentar Americana é endêmica no Estado de São Paulo, ocorrendo quase exclusivamente em zonas rurais. A transmissão é caracterizada pela ocorrência de casos esporádicos. Surtos epidêmicos são característicos de algumas regiões geralmente ligados à ocupação do solo por novas áreas de plantio ou invasão de mata por extensão urbana. A epidemiologia da LTA vem adquirindo novos aspectos, de acordo com a região onde a doença ocorre.

O número médio de casos autóctones por ano varia de 300 a 400, o que corresponde ao coeficiente de detecção de incidência de 1,0 a 1,5 por 100.000 hab.

Em relação à forma clínica, 80% dos casos são da forma cutânea. Em relação à distribuição por faixa etária, a frequência é maior na faixa etária produtiva, acima dos 15 anos e no sexo masculino. Em relação à incidência por município, as principais regiões de transmissão são Vale do Ribeira, Sorocaba, Araçatuba, Presidente Prudente e Caraguatatuba.

O percentual de cura tem variado de 70 a 80%, porém chamam atenção os casos de óbitos durante e após tratamento.

Conclusão

Entender a influência do processo de urbanização e desenvolvimento agropecuário na ocorrência da doença poderá contribuir para o conhecimento dessa zoonose. A LTA compõe o elenco de prioridades definido no Pacto pela Saúde, Plano Estadual e Municipal, porém é uma zoonose negligenciada. A vigilância epidemiológica apresenta

deficiências nas articulações interinstitucionais MUNICÍPIO - VE/GVE- SR/SUCEN; o preenchimento inadequado das fichas de investigação impossibilita a determinação do local provável de infecção; o tempo entre a suspeita e a notificação do caso é muito longo e outras atividades relacionadas ao controle de doenças de transmissão vetorial são priorizadas, em detrimento da investigação e controle de foco de LTA.

RESERVATÓRIOS NATURAIS DOS AGENTES ETIOLÓGICOS DA DOENÇA DE CHAGAS E DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

Helena Hilomi Taniguchi, José Eduardo Tolezano
Instituto Adolfo Lutz – Núcleo de Parasitoses Sistêmicas
hhtaniguchi@uol.com.br

A epidemiologia da doença de Chagas e da leishmaniose tegumentar americana (LTA) caracteriza-se pelo envolvimento de protozoários digenéticos da família Trypanosomatidae, respectivamente *Trypanosoma cruzi* e diferentes espécies de *Leishmania* como agentes etiológicos. Estes parasitas incluem em seus ciclos de vida hospedeiros invertebrados chamados de vetores ou transmissores e hospedeiros vertebrados, estes últimos podendo atuar como reservatórios naturais desses tripanossomatídeos.

Conceitua-se como **reservatório natural** ou fonte vertebrada de infecção a espécie animal que, na natureza, é passível de transmitir um determinado parasito para outros seres vivos, no caso dos tripanossomatídeos para os vetores (invertebrados) dentro dos ciclos naturais de transmissão do patógeno considerado ou para outros hospedeiros vertebrados em ciclos denominados alternativos, entre os quais transmissão transfusional, oral, congênita e por compartilhamento de seringas entre usuários de drogas etc^{12, 3}.

A incriminação de uma espécie como reservatório do *T. cruzi* e/ou *Leishmania* depende de alguns fatores: (i) suscetibilidade do hospedeiro vertebrado ao parasita; (ii) sobreposição da distribuição geográfica e temporal do hospedeiro coincidente com a do parasito e dos vetores; (iii) presença do mesmo parasita no hospedeiro reservatório e no homem; (iv) elevada prevalência de infecção entre subpopulações de hospedeiros (jovens e adultos, machos e fêmeas, por exemplo); (v) "infectividade" do hospedeiro reservatório natural infectado; (vi) sobrevivência do hospedeiro por tempo suficiente para garantir a transmissão do parasita^{4, 5}.

Trypanosoma cruzi circula naturalmente no ambiente silvestre entre mamíferos de diferentes grupos, tais como preguiças (*Bradypus sp*, *Choloepus sp*), morcegos, roedores, marsupiais (*Didelphis sp*), primatas (*Callithrix*), tatus (*Dasybus novemcinctus*) e triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), seus hospedeiros invertebrados que atuam como os vetores, principalmente os pertencentes aos gêneros *Triatoma*, *Rhodnius* e *Panstrongylus*⁶.

Se para o agente etiológico da doença de Chagas admite-se a existência de uma única espécie *T. cruzi*, com linhagens variantes, para os agentes causais das leishmanioses os taxonomistas assumem a existência de diferentes espécies.

Em relação a *Leishmania*, reconhece-se cerca de 30 diferentes espécies em todo o mundo, a quase totalidade delas identificadas como parasitas de animais silvestres e, menos frequentemente, de animais domésticos.

Nas leishmanioses considerando-se a complexidade da interação parasita-hospedeiro-vetor, que inclui diferentes espécies de parasitas, hospedeiros e vetores nas diferentes regiões geográficas, em que a parasitose é conhecida e, em função das constantes modificações na feição paisagística, faz-se necessário esclarecer que um reservatório primário, em dada região, pode atuar como secundário em outra região ou em diferentes períodos do ano.

Assim, no Brasil para a LTA são identificados como principais agentes etiológicos⁷:

- ***Leishmania (Leishmania) amazonensis***, transmitida por *Lutzomyia flaviscutellata* na região norte, a alta incidência de infecção em roedores do gênero *Proechimys* (rato do espinho), *P. guyanensis* na região norte e *P. iheringi* na região sudeste os incrimina como reservatórios primários, enquanto outros animais silvestres (*Philander opossum*, *Didelphis marsupialis* e roedores terrestres) desempenham o papel de reservatórios secundários;
- ***Leishmania (Viannia) braziliensis***, embora tenha sido a primeira espécie descrita como agente etiológico da LTA, até hoje, pouco se sabe em relação aos reservatórios primários e/ou secundários desta espécie. Em diferentes regiões do país já foi isolada de roedores silvestres e sinantrópicos, marsupiais, e, também, de animais domésticos como cães, gatos e equídeos; *Lutzomyia intermedia*, *Lu. whitmani*, e *Psychodopygus wellcomei* têm sido incriminados como vetores.

- ***Leishmania (Viannia) guyanensis***, a transmissão ocorre na copa das árvores na floresta amazônica entre os flebotomíneos (*Lutzomyia umbratilis* e *Lutzomyia anduzei*) e animais arborícolas, *Choloepus didactylus* (Preguiça) e *Tamandua tetradactyla*, incriminados como reservatórios primários desta espécie, enquanto marsupiais *Didelphis marsupialis* tem papel secundário na transmissão.

Em relação ao estudo de reservatórios não humanos de *Leishmania*, no Estado de São Paulo, muito pouco se conhece. Embora existam alguns registros a partir da década de 60, ainda, não se conseguiu caracterizar os reservatórios silvestres primários ou, ao menos, as fontes não humanas responsáveis pela infecção humana⁸⁻¹².

A maioria das espécies de *Leishmania* tem sido considerada como, primariamente, parasitas de animais silvestres e, menos frequentemente, de animais domésticos. Com poucas exceções, as leishmanioses são doenças zoonóticas^{13,14}.

O envolvimento de animais silvestres como reservatórios de *Leishmania* na LTA foi inicialmente comprovada pelo encontro de roedores silvestres naturalmente infectados no Panamá¹⁵. A partir de então, importantes e numerosos achados de novas espécies de *Leishmania*, de vetores e de hospedeiros vertebrados silvestres e domésticos foram decisivos para a definição de um complexo quadro epidemiológico da LTA. Nessa estrutura é possível reconhecer diferentes ciclos de transmissão em que podem estar presentes e participantes espécies de flebotomíneos incriminadas como vetores primários, além de outras, atuando como vetores secundários. O mesmo pode ser dito em relação aos reservatórios naturais como possíveis fontes primárias, normalmente mamíferos silvestres e outras, podendo desempenhar um papel secundário na manutenção e perpetuação do parasita na natureza.

Em áreas endêmicas para as leishmanioses nas Américas, dentre as dezenas de espécies de mamíferos silvestres encontradas naturalmente, infectadas por alguma espécie de *Leishmania*, predominam roedores, marsupiais, edentados, poucos primatas e carnívoros¹⁶.

Entre os animais domésticos, os cães em particular, podem atuar como fontes de infecção tanto de *T. cruzi* quanto de algumas espécies de *Leishmania* para espécies de transmissores que colonizam no ambiente peridoméstico e doméstico.

Outro grupo de animais, os sinantrópicos, *Didelphis* sp, *Rattus* spp, *Euphractus sexcinctus*, que se aproximam do domicílio ou peridomicílio à busca de alimentos também constituem importantes reservatórios, quer em relação a *Trypanosoma cruzi*, ou a *Leishmania* spp.

Os resultados de investigações por nós realizadas, em diferentes regiões do Estado de São Paulo, revelaram a alta circulação desse grupo de protozoários entre os animais silvestres capturados, *T. cruzi* foi isolado de *Philander opossum*, 13,4% (19 de 142); de *Proechimys. Iheringi*, 16,1% (22 de 137); de *Didelphis aurita*, 4,2% (1 de 24) e de *Oxymycterus incanus* 20,0% (2 de 12). É interessante observar que a parasitemia não é constante, muitas vezes, o animal infectado revela-se positivo em uma coleta e quando recapturado, pode resultar negativo ao xenodiagnóstico¹⁷.

No Estado de São Paulo, também foram identificados alguns animais silvestres (*Proechimys iheringi*; *Philander opossum*; *Didelphis aurita*, *Oxymycterus incanus*), naturalmente infectados com *Leishmania braziliensis* e *L. amazonensis*. A relativa frequência de cães e equinos encontrados infectados por *L. (V) braziliensis*, em várias partes da região sudeste do Brasil, tem possibilitado especular, ou mesmo demonstrar a participação de animais domésticos como fontes de infecção¹⁸⁻²¹.

Alguns grupos de animais pertencentes às Ordens Cingulata (tatus) e Pilosa (tamanduás e preguiças), pertencentes à ancestral fauna da América do Sul, surgiram no Terciário há aproximadamente 65 milhões de anos. Estudos indicam que *T. cruzi* tenha surgido no Cretáceo da era Mesozoica, há 150 milhões de anos e, *L. (Viannia)* que inclui *L. (V.) braziliensis*, agente etiológico da maioria dos casos de LTA em São Paulo e no Brasil, tenha surgido há 10 milhões de anos, em meados do Mioceno da era Cenozoica. Considerando-se que em período menos distante, há cerca de 2-3 milhões de anos a América do Sul estava isolada dos demais continentes, assim, pode-se apontar como hipótese que aqueles animais venham passando por uma longa coevolução com as diferentes linhagens de *T. cruzi* e *Leishmania (Viannia)*, resultando na eliminação de parasitos mais virulentos e/ou patogênicos, e na perpetuação tanto do hospedeiro quanto do parasita.

Referências

1. Dias JCP. Notas sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bio-ecológicas, como agente de enfermidades transmitidas por alimentos. Rev Soc Bras Med Trop. 2006; 39(4).
2. Ministério da Saúde. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. Divisão de Doença de Chagas SUCAM/MS. Doença de Chagas e Transfusão de Sangue. In: Doença de Chagas: textos de apoio. Brasília: Sucam. 1989; 52. Disponível em: <http://carloschagas.ibict.br/doenca/sec/dc-cd-571/dc-cd-571-10.html>.
3. Jansen-Franken AM. *Trypanosoma cruzi*: reflexões sobre reservatórios. Disponível em: <http://fiocruz.br/chagas/cgi/cgilia.exe/sys/start.htm>.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007:180 il. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
5. Roque ALR, Vaz VC. Roedores. Disponível em: <http://fiocruz.br/chagas/cgi/cgilia.exe/sys/start.htm>.
6. 6. Ministério da Saúde. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. Gouveia SC, Bronjen E, Dias JCP. O Causador da Doença de Chagas *Trypanosoma cruzi*. In: *Doença de Chagas: Textos de apoio*. Brasília: Sucam, 1989: 52. Disponível em: <http://carloschagas.ibict.br/doenca/sec/dc-cd-571/dc-cd-571-10.html>.
7. Marzochi MCA. Leishmanioses no Brasil. As Leishmanioses Tegumentares. JBM. 1992; 63(5/6): 82-104.
8. Forattini OP. Sobre os reservatórios naturais de leishmaniose tegumentar americana. Rev Inst Med Trop S. Paulo. 1960; 2: 195-203.
9. Forattini OP, Pattoli DBG, Rabello EX & Ferreira AO. Infecções naturais de mamíferos silvestres em área endêmica de leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo, Brasil. Rev Saúde Públ. 1972; 6:255-61.
10. Forattini OP, Pattoli DBG, Rabello EX & Ferreira OA. Nota sobre a infecção natural de *Oryzomys capito laticeps* em foco enzoótico de leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo. Rev Saúde Públ. 1973: 7:181-4.
11. Yoshida ELA, Silva R, Cortez LS & Correa FMA. Encontro de espécie do gênero *Leishmania* em *Didelphis marsupialis aurita* no Estado de São Paulo, Brasil. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1979; 21: 110-3.
12. Tolezano JE, Araujo MFL, Balanco JMF, Valentin AM & Barca ML. *Leishmania* sp isolated from blood heart of *Akodon* sp (Rodentia, Cricetidae) caught in Iguape City, São Paulo State, Brazil. In: Proceedings of 15th Annual Meeting on Basic Research in Chagas' Disease, 1988. Caxambu, MG, Brasil.
13. Lainson R.. The American Leishmaniasis: some observations on their ecology and epidemiology. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1983; 77: 569-596.
14. Mello DA. Parasitic disease in Brazil and the role of wild mammals: an analysis based on leishmaniasis, Chagas disease and Schistosomiasis mansoni. Ciênc Cult. 1991; 43: 274-278.
15. Hertig M, Fairchild GB e Johnson CM.. Leishmaniasis transmission-reservoir project. Ann Rep Gorgas Memor Laboratory. 1957; 9-11.
16. Lainson R & Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters W, Killick-Kendrick R editors. The Leishmaniasis in Biology and Medicine. I. Biology and Epidemiology. London: Academic Press Inc; 1987:1-120.
17. Tolezano JE, Westphalen EVN, Taniguchi HH, Araújo MFL, Garcia AS, Westphalen SR et al. Dinâmica de circulação de *Trypanosoma cruzi* no ambiente natural florestado na Ilha de São Sebastião (Ilhabela), Litoral Norte do Estado de São Paulo, Brasil. In: Anais da XX Reunião Anual de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas & VIII de Leishmanioses, 2004. Uberaba, Minas Gerais, Brasil.
18. Tolezano JE, Taniguchi HH, Araújo MFL, Cunha EA, Chioccola VLP, Shaw JJ. Evidence of different *Leishmania* enzootic cycles, specially *L (V) braziliensis* in two endemic american cutaneous leishmaniasis (ACL) regions of São Paulo State, Brazil. In: Proceedings of 3rd World Congress Of Leishmaniasis, 2005. Palermo, Itália.
19. Tolezano JE, Taniguchi HH, Chioccola VLP, Cunha EA, Garcia AS, Gomes AHS et al. Enzootia silvestre por *Leishmania (Viannia) braziliensis* em regiões endêmicas para leishmaniose tegumentar americana (LTA) no Estado de São Paulo, Brasil. [resumo]. Rev Soc Bras Med Trop. 2005; 38:410-411. In: XLI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical & I Encontro de Medicina Tropical do Cone Sul, 2005. Florianópolis, SC, Brasil.

20. Tolezano JE, Taniguchi HH, Araújo MFL, Cunha EA, Garcia AS, Barbosa JAR et al. Ecoepidemiologia das leishmanioses: experiência de 25 anos de estudos no Estado de São Paulo, Brasil, 1980-2005. [resumo]. Rev Patol Tropical, 2005. In: XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia, 2005. Porto Alegre, Brasil.
21. Taniguchi HH, Araújo MFL, Barbosa JAR, Barbosa JER, Gomes AHS, Pereira-Chiocola VL et al. Dynamics of circulation and perpetuation of *Leishmania* spp and leishmaniasis in the state of São Paulo, Brazil, an ancient colonization region. In: 4th World Congress on Leishmaniasis, 2009. Lucknow, India. WorldLeish4, 2009.

DOENÇA DE CHAGAS E LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO ESTADO DE SÃO PAULO: ASPECTOS ENTOMOLÓGICOS E DE CONTROLE NO CENTENÁRIO DAS DESCOBERTAS

Dalva Marli Valério WANDERLEY*, Rubens Antonio da SILVA, Ricardo Mario de Carvalho CIARAVOLO, Gerson Laurindo BARBOSA, Vera Lúcia Cortiço Corrêa RODRIGUES.

*Endereço para correspondência: Departamento de Controle de Vetores, Superintendência de Controle de Endemias, Rua Paula Souza 166, 1º Andar, CEP 01027-000 São Paulo/SP. Fone: (0xx11) 3311-1106. Fax: (0xx11) 3311-1127. e-mail: dalva@sucen.sp.gov.br.

Resumo

Trata-se de trabalho descritivo sobre o surgimento, o controle e a vigilância entomológica da doença de Chagas e Leishmaniose Tegumentar Americana no Estado de São Paulo. Para a doença de Chagas, buscou-se demonstrar os resultados da evolução de um programa estruturado em fases e o êxito empreendido contra o *Triatoma infestans*. No tocante a LTA, procurou-se evidenciar a mudança de ocorrência do perfil de transmissão e o papel vetorial das espécies envolvidas nesta dinâmica. Atualmente, a transmissão vetorial da doença de Chagas está interrompida, permanecendo as ações de vigilância entomológica sobre as espécies secundárias que invadem o domicílio humano. No caso da LTA, a vigilância é deflagrada em áreas com suspeita de autoctonia, nos locais onde se desconhece a informação de possíveis espécies vetoras.

Palavras-chave: Doença de Chagas, Leishmaniose Tegumentar Americana, Flebotomíneos, Triatomíneos, Vigilância entomológica.

Abstract

This is descriptive account of the origin control and entomological surveillance of Chagas disease (CD) and American tegumentary leishmaniosis (ATL) in the state of São Paulo, Brazil. Concerning Chagas disease, we aimed to demonstrate the results of the evolution of a program structured as a sequence of stages and the successful action against *Triatoma infestans*. With regard to ATL a change in the transmission pattern was emphasized as well as the role of the vector species involved in the transmission dynamics. Vector transmission of CD is interrupted at present, but the actions of entomological surveillance concerning secondary vector species which may invade the human domicile remain. In the case of ATL, surveillance is active in areas under suspicion of autochthony and those where insufficient information is available on the probable vector species.

Key words: Chagas disease, American Tegumentary Leishmaniosis, Sandflies, Triatomines, Entomological surveillance.

Introdução

No Estado de São Paulo, nas primeiras décadas do século passado, com o desbravamento da região oeste devido ao deslocamento da fronteira agrícola em busca de novas áreas para a expansão da cultura cafeeira, surgiram importantes focos endêmicos da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), principalmente na região da Alta Sorocabana, Noroeste e Alta Paulista. A partir de 1905, a LTA foi considerada como problema de saúde pública¹ com a descrição de casos em trabalhadores envolvidos na construção da estrada de ferro nas regiões citadas. A doença de Chagas foi descrita quatro anos depois, em 1909, por Carlos Chagas, em Lassance, Minas Gerais². As primeiras referências sobre a existência de triatomíneos no Estado de São Paulo datam de 1910 e 1912, quando Neiva³ destacou o envolvimento das principais espécies transmissoras: *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus* e *Triatoma sordida*, nas moradias, deixando clara a presença predominante da primeira³. Em seguida foi constatada a infecção humana⁴.

O processo de desenvolvimento econômico do Estado foi determinante na dispersão inicial do *T. infestans*. À proporção que a fronteira agrícola avançava, a situação foi sendo modificada. Bayma⁴ assinalava a presença de

casos crônicos da doença de Chagas, e Carini e Maciel⁵ mapearam, na época, as localidades que constituíam habitat para vetores. Desde então, foi possível dividir a área ocupada do Estado em uma zona infestada, ao norte, na divisa com o Estado de Minas Gerais, onde a população era mais densa e maior o desenvolvimento da cultura do café e da cana-de-açúcar, e outra área indene, que compreendia uma larga faixa acompanhando o litoral⁶.

Os primeiros trabalhos realizados sobre os vetores da LTA, no Estado de São Paulo, datam nas décadas de 1930 e 1940, por Pessoa e Barretto⁷ e, posteriormente, por Forattini⁸. As espécies descritas como mais importantes foram *Lutzomyia whitmani*, *Lutzomyia pessoai*, *Lutzomyia fischeri* e *Lutzomyia migonei*. A distribuição de flebotomíneos em nosso Estado vem sendo objeto de análise há muito tempo. Barretto⁹ reuniu dados para o primeiro estudo organizado da distribuição destes dípteros. Desde então, a participação dos flebotomíneos na epidemiologia da LTA vem sendo documentada. É justamente no final da década de 1940, que se iniciam as atividades de controle de *T. infestans*, embora, logo após sua descoberta, já tenha surgido a ideia da necessidade do controle da doença, com o próprio Carlos Chagas cobrando dos poderes públicos providências, visando a mudanças nas condições de habitabilidade e salientando ser o triatomíneo frágil às medidas de ataque.

Da detecção da doença de Chagas em São Paulo até a década de 1930, as ações contra os triatomíneos eram de manifestações isoladas¹⁰. A organização do Serviço Sanitário do Estado orientava-se pela constituição de departamentos ou inspetorias específicas para cada problema de saúde. Em 1931, havia a Inspetoria de Profilaxia da Lepra, da Tuberculose, da Sífilis, de Doenças Venéreas e, mais tarde, do Impaludismo¹¹. Em 1938, o Serviço Sanitário se transformaria em Departamento de Saúde e as Inspetorias em Serviços e Seções, sendo substituída a Inspetoria do Impaludismo, pelo Serviço de Profilaxia da Malária. No futuro, este serviço acabaria por incorporar novas atividades como o controle da febre amarela e, mais tardiamente, o controle da doença de Chagas¹².

Em 1941, a distribuição dos triatomíneos descrita por Rosenfeld e Cardoso¹³ evidenciaria a expansão da endemia chagásica para o oeste do Estado. Vários municípios apresentavam-se infestados com o aparecimento de novos casos da doença, impondo-se, de forma definitiva, como um problema sanitário do meio rural. O Vale do Paraíba constituiu exceção, confirmando-se, na época, a inexistência de triatomíneos domiciliados¹⁴. As fazendas, isoladas uma das outras, com pouca interação entre seus habitantes, constituíam um tipo de organização do espaço geográfico pouco propício ao estabelecimento da endemia chagásica¹⁵.

Ao ingressar na fase mais dinâmica do processo de ocupação do seu território, em função da expansão da economia cafeeira, a fronteira agrícola de São Paulo sofreu deslocamentos em busca de novas áreas para expansão desta cultura¹⁵. Neste processo demarcaram-se novos perfis da distribuição das doenças. A partir da década de 1950, o Estado sofreu um novo processo de desmatamento para atender a expansão agropecuária, produzindo importantes modificações de ordem econômica e paisagística observadas, principalmente na região compreendida entre o Planalto Atlântico e o Planalto Ocidental Paulista. Na região da Província Costeira, o processo de devastação encontrou obstáculos naturais, como o relevo acidentado, persistindo, dessa forma, extensas áreas de cobertura vegetal inalterada. Paralelamente à diversificação da produção agrícola e intensificação do trabalho assalariado (envolvendo deslocamentos da população trabalhadora), a doença de Chagas se expandiu no Planalto Paulista¹⁵. Foi nesse período pós-devastação que a LTA teve diminuída a sua importância como um problema de saúde pública.

No final da década de 1950, com a descrição de novos ciclos de transmissão na região do Vale do Ribeira, antes considerada indene, a doença reassumiu sua importância¹⁶.

O presente artigo tem por objetivo analisar a evolução das ações de controle vetorial, comparando-as ao início das atividades de vigilância entomológica da doença de Chagas e LTA, instituídas no Estado de São Paulo, culminando com a situação atual dos programas.

Material e Métodos

Trata-se de trabalho descritivo sobre a problemática da doença de Chagas e LTA no Estado de São Paulo. Para a doença de Chagas buscou-se demonstrar a evolução de um programa de controle de vetores e o êxito

empreendido contra o *Triatoma infestans*. No tocante a LTA, procurou-se evidenciar a mudança de ocorrência do perfil de transmissão e o papel das espécies vetoras envolvidas nesta dinâmica.

Foram analisados os resultados obtidos no Programa de Controle da Doença de Chagas, desenvolvido pela Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) e pelas instituições que a antecederam desde 1950, data de início das atividades de controle. As informações foram extraídas de relatórios internos, sistemas de informações, artigos, dissertações de mestrado e teses de técnicos do serviço.

Os dados sobre vetores da LTA, no início do século XX, foram resgatados dos trabalhos de Barretto⁹ e Pessoa e Barretto⁷. Os dados atuais, referentes ao período de 1985 a 2008, foram obtidos das pesquisas entomológicas realizadas pela Superintendência de Controle de Endemias, quando da ocorrência de casos autóctones de LTA.

Foram analisadas as séries históricas de presença de triatomíneos e flebotomíneos no início das atividades de controle dos vetores e na fase de vigilância entomológica.

Na fase atual são apresentadas informações atinentes à metodologia das vigilâncias instituídas, sendo para a doença de Chagas, por meio de notificações espontâneas pela população, situação que deflagra pesquisa na casa notificante e naquelas situadas a um raio de 200 metros em área de *T. sordida* e 100 metros em área de *P. megistus*, com emprego de controle químico, com inseticidas de ação residual da classe dos piretroides, nas casas com encontro de novos exemplares de triatomíneos¹⁷. Para a LTA são descritas as ações de vigilância entomológica, desencadeadas em áreas com suspeita de autoctonia e controle químico, também com piretroides, realizado em áreas com ocorrência de mais de um caso autóctone no período de seis meses.

Todas as informações foram agrupadas em bancos de dados e as frequências extraídas através de programas de análise.

Resultados

No Estado de São Paulo o controle dos triatomíneos domiciliados teve início na década de 1950, ocasião em que a presença de *T. infestans* havia sido constatada em 62,6% dos municípios então existentes (Figura 1 A), com 40,1% dos exemplares encontrados infectados pelo agente etiológico¹⁴. Nesta mesma época, a disseminação da LTA foi pouco estudada com alguns trabalhos denotando investigações em áreas restritas^{18,19,20} (Figura 1 B).

No ano de 1964 instituiu-se a fase denominada Arrastão, que perdurou até o ano de 1967, caracterizada pela aplicação de inseticida BHC 30% em todas as casas e anexos da zona rural. Apoiados na concepção de erradicação, o controle de vetores da doença de Chagas passou a ser central²¹.

Em 1968, o Arrastão foi substituído pelo período do expurgo seletivo (1968 a 1972), que incluía pesquisa prévia de casas e anexos situados em áreas da zona rural. Com presença de triatomíneos, realizava-se controle químico²¹.

Numa perspectiva de diminuição do custo das atividades, sem alterar a eficiência das ações de controle aliada a um refinamento das áreas de trabalho, se estabeleceu a fase de prioridades, a partir do ano de 1973 até o ano de 1983, quando se adotou o conceito de estratificação epidemiológica, envolvendo medidas estruturadas com base no risco da transmissão da doença, adequando a periodicidade da pesquisa de triatomíneos aos índices de infestação de cada espécie de destacada importância epidemiológica²¹. A transmissão natural da doença de Chagas por triatomíneos domiciliados foi interrompida, fato comprovado através de inquérito sorológico em escolares e indicadores entomológicos da presença de *T. infestans*²¹.

A partir do ano de 1984, o controle da doença de Chagas passou por nova reformulação, estruturando-se a fase de Consolidação/Vigilância entomológica com eliminação dos focos residuais de *T. infestans* e implantação da vigilância entomológica para espécies secundárias, com o incentivo da participação da população na notificação de insetos suspeitos^{17, 21}. Atualmente se atende a uma notificação em prazo não superior a 60 dias e realiza-se uma extensão de pesquisa entomológica nas casas vizinhas situadas a um raio de 100 metros em área de *T. sordida*, e 200 metros para área de *P. megistus*. A Figura 2 apresenta a positividade das casas e anexos pesquisados de 1968 a 2002, período que percorre as diferentes fases do programa de controle, onde se observa uma redução linear desta positividade.

Nas últimas décadas do século XX, a LTA reassumiu nova importância para o Estado de São Paulo: observou-se o estabelecimento de um novo perfil de transmissão desta doença, não mais associada à derrubada de matas, mas resultante da ultrapassagem de barreiras ecológicas dos vetores naturais da espécie. Foi possível definir dois perfis epidemiológicos de transmissão: o primeiro resultante do contato do homem com o ciclo enzoótico silvestre, e o segundo relacionado com a transmissão domiciliar, em áreas com profundas modificações do ambiente natural, envolvendo o homem, animais sinantrópicos e espécies de flebotomíneos adaptados aos ambientes rurais e periurbanos^{22,23,24}. Com essa alteração do ambiente natural, houve alternância do papel das espécies de flebotomíneos, emergindo *Lutzomyia intermedia* como a espécie de maior importância epidemiológica na transmissão da LTA no Estado²⁵. A Tabela 1 mostra a distribuição das espécies de flebotomíneos em dois períodos: de 1939 a 1943⁷, onde as espécies predominantes *L. whitmani*, *L. pessoai*, *L. migonei* e *L. fischeri* representavam quase 95% dos exemplares capturados; e o período de 1985 a 1995, com dados de capturas entomológicas realizadas pela SUCEN, quando se observou que a espécie *L. intermedia* representou 80% dos exemplares capturados, corroborando com Tolezano²⁵.

Atualmente a situação epidemiológica da LTA no Estado de São Paulo caracteriza-se pela predominância de casos autóctones em todo o Estado sobrepondo-se a distribuição dos flebotomíneos vetores (Figura 3 B). A principal espécie que tem sido incriminada como vetaora é *L. intermedia*, sendo que outras como *L. whitmani*, *L. fischeri* e *L. migonei* são consideradas como potencialmente importantes na transmissão. *Lutzomyia intermedia* é espécie bem adaptada ao ecótopo humano, principalmente nas áreas de formação aberta com paisagem bastante modificada pelo homem; pela sua coincidência com os focos de transmissão, em ambientes modificados em zonas rurais e periurbanas; pela alta abundância em relação às demais espécies encontradas nesse ambiente; pela sua frequência no ambiente domiciliar, inclusive no intradomicílio e sua estreita associação com a população humana e com animais domésticos.

Com relação à principal espécie vetaora da tripanossomíase americana, em 1978 ocorreu a última captura, no Estado de São Paulo, de exemplares de *T. infestans* infectados pelo *T. cruzi*. Durante a década de 1990 foram observados três episódios de presença de *T. infestans* no Estado de São Paulo por transporte passivo, sendo um no ano de 1990 com 01 exemplar vindo do Estado de Minas Gerais; outro em 1994, detectado no município de Sumaré, e o último em 1999, onde um foco, com 108 exemplares da espécie em propriedade rural no município de Paulínia (região de Campinas), foi detectado, evidenciando o risco de reinstalação da espécie, favorecida pela facilidade de transporte^{26,27}.

A partir do ano de 2004, implantou-se nova reformulação no programa de controle da doença de Chagas, com a suspensão da busca ativa de triatomíneos por parte da SUCEN, restringindo-se a vigilância à notificação de possíveis triatomíneos pela população²⁸. A Figura 3 A mostra a distribuição desta notificação no Estado, onde se observa o resultado da estratégia de uma vigilância entomológica ativa envolvendo a população. No que diz respeito à profilaxia da LTA, nas áreas com suspeita de autoctonia e sem informação de espécies de flebotomíneos de importância epidemiológica, tem sido realizada a investigação entomológica no intra e peridomicílio. Quando da ocorrência de 2 ou mais casos, com intervalo mínimo de 6 meses, na mesma localidade e constatada transmissão domiciliar, é realizada a borrifação com inseticida de ação residual da classe dos piretroides sintéticos, nas casas da área delimitada²⁸.

Discussão

No Estado de São Paulo o controle de triatomíneos domiciliados teve início na década de 1950. A situação da doença de Chagas no Estado caracteriza-se, do ponto de vista das ações de controle da transmissão vetorial, em atividades de vigilância entomológica de espécies de triatomíneos que colonizam o ambiente humano peridomiciliar e apresentam capacidade invasora no intradomicílio. Nestas situações, a população tem sido estimulada a denunciar a presença desses vetores em suas casas, encaminhando-os à SUCEN diretamente ou por meio da rede de saúde. A sorologia aplicada a essa população não tem detectado transmissão recente da doença de Chagas, embora selecione indivíduos com reações sorológicas positivas devido ao contato pretérito com triatomíneos infectados. A propósito, é exemplar o desenvolvimento do Programa de Controle da Doença de Chagas no Estado de São Paulo, que primeiro

conseguiu o efetivo controle do *T. infestans*, descortinando o novo contexto de estratégias de vigilância que se impõe no sentido de resguardar o controle alcançado da doença.

As alterações verificadas no meio rural paulista, com ênfase na diminuição da população e na modificação da qualidade dos domicílios, tiveram papel fundamental no sentido do êxito do controle da transmissão da doença de Chagas por triatomíneos domiciliados. A isso se devem somar as campanhas de saúde pública visando ao controle desta doença.

À medida que as informações disponíveis reforçam a interrupção da transmissão natural da tripanossomíase americana, amplifica-se a nova ordem de estruturação da vigilância, no sentido de resguardar o controle alcançado, evitando os riscos de reinfestação/reintrodução de transmissão autóctone.

Quanto a LTA, apesar de ser doença de notificação compulsória, estima-se que ocorra importante subnotificação, devido, principalmente, ao despreparo das equipes de saúde para diagnóstico precoce da doença²⁹, além do longo período de incubação e do retardamento do paciente ao primeiro atendimento médico³⁰. O controle da LTA é dependente de vários fatores: ações governamentais, educação continuada de profissionais de saúde e utilização de ferramentas eficazes para controle do vetor. Ao longo dos últimos anos, a LTA tem sido registrada em todo o Estado, com uma média de 600 casos ao ano³¹ e maior registro naquelas regiões de domínio da mata atlântica. Uma vez instalada, tem difícil controle pela complexidade de sua problemática³⁰. Na forma de transmissão silvestre, as ações de controle são praticamente não aplicáveis frente ao caráter zoonótico da parasitose²⁹. Com relação à transmissão periurbana, medidas antivetoriais e eficiente sistema de vigilância epidemiológica são condições necessárias para o efetivo controle da doença, uma vez que a melhoria das condições de vida da população, outro importante componente, foge ao propósito técnico da área de saúde²⁹.

No estágio atual da situação epidemiológica das duas endemias, considerando-se que, para DC, a vigilância entomológica é ativa, e para a LTA, tardia. Destaca-se como importante, a manutenção do estímulo à participação da população na notificação de insetos, o desenvolvimento de novas abordagens de vigilância vetorial em áreas urbanas (*Rhodnius neglectus*) e de estratégias para o enfrentamento de novos fatores de risco (ecoturismo). Ao mesmo tempo, deve-se inserir a LTA na esfera das discussões de doenças que causam impactos na saúde pública e priorizar o desenvolvimento de estudos que subsidiem a sustentabilidade das ações.

Referências

1. Sampaio LF. O aparecimento, a expansão e o fim da leishmaniose no estado de São Paulo. Rev Brasil Med. 1951; 8:717-21.
2. Chagas C. Moléstia de Carlos Chagas In: Prata A organizador. Carlos Chagas. Coletânea de Trabalhos Científicos. Brasília: Editora Universidade de Brasília; 1981. 167-192.
3. Neiva A. Notas de entomologia médica e descrição de duas espécies de triatomas norte-americanos. Rev Brasil Med. 1912; 26:21-22.
4. Bayma T. Moléstia de Chagas: notas sobre a verificação parasitológica no homem, em São Paulo. Rev Méd S Paulo. 1914; 17:3.
5. Carini A, Maciel J. Distribuição dos triatomas no Estado de São Paulo. Ann Paul Med Cir. 1914; 2:78-79.
6. Buralli GM. Estudo do Controle dos triatomíneos domiciliados no Estado de São Paulo [dissertação de mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 1985. p. 244.
7. Brasil. Ministério da Educação e Saúde. Pessoa SB, Barreto MP. Leishmaniose Tegumentar Americana. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional; 1948. 527.
8. Forattini OP. Algumas observações sobre a biologia de flebótomos (Diptera, Psychodidae) em região da Bacia do Paraná (Brasil). Arq Fac Hig Saúde Publ. 1954; 8:15-36.
9. Barreto MP. Observações sobre a biologia, em condições naturais, dos flebótomos do Estado de São Paulo (*Diptera, Psychodidae*) [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina da USP, 1943. p. 162.
10. Rocha e Silva EO, Rodrigues VLCC. Doença de Chagas: considerações sobre as atividades de controle dos triatomíneos no Estado de São Paulo. Rev Patol Trop. 2000; 29(supl I): 191-198.

11. Matos MR. Malária em São Paulo: Epidemiologia e História. São Paulo: Hucitec; 2000.
12. Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN): 50 anos de luta. São Paulo;1984. p.27,
13. Rosenfeld G, Cardoso FA. Distribuição dos triatomíneos e a moléstia de Chagas no Estado de São Paulo (Brasil). Rev Clin São Paulo. 1941; 9:198-209.
14. Unti O, Martins H. Inquérito entomológico sobre a moléstia de Carlos Chagas no Vale do Rio Parahytinga (Nota preliminar). Rev Ass Paul Med. 1941; 18(1):52.
15. Silva LJ. A evolução da doença de Chagas no Estado de São Paulo. São Paulo: Hucitec, 1999.
16. Forattini OP, Oliveira O. Um foco de leishmaniose tegumentar na zona sul do Estado de São Paulo, Brasil. Arquivos da Faculdade de Higiene e Saúde Pública. 1957; 11:23-34.
17. Silva RA, Wanderley DMV, Domingos MF, Yasumaro, Scandar SAS, Pauliquévis-Júnior C et al. Doença de Chagas: notificação de triatomíneos no Estado de São Paulo na década de 1990. Rev Soc Bras Med Trop. 2006; 39(5):488-494.
18. Brumpt EJA, Pedrosa A. Pesquisas epidemiológicas sobre a leishmaniose americana das florestas no Estado de S Paulo (Brasil). An Paul Med Cirurg. 1913; 1: 97 - 136.
19. Takaoka S. Estudo topográfico sobre a prevenção contra a leishmaniose americana. Rev Med Cirurg S Paulo. 1928; 11 (1): 32-47.
20. Pestana BR, Pessoa SB, Correa A. Notas sobre a leishmaniose no município de Marília. Folha Med. 1939; 20: 97-98.
21. Rocha e Silva EO, Wanderley DMV, Rodrigues VLCC. *Triatoma infestans*: importância, controle e eliminação da espécie no Estado de São Paulo, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 1998; 31(1):78-88.
22. Domingos MF, Carreri-Bruno GC, Ciaravolo RMC, Galati EAB, Wanderley DMV, Corrêa FMA. Leishmaniose Tegumentar Americana: flebotomíneos de área de transmissão, no município de Pedro de Toledo, região sul do Estado de São Paulo, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 1998; 31(5), 425-432.
23. Gomes AC. Sandfly vectorial ecology in the State of São Paulo. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1994; 89:457-60.
24. Gomes AC, Barata JMS, Rocha e Silva EO, Galati EAB. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana: 6. Fauna flebotomínea antropófila de matas residuais situadas na região centro-nordeste do estado de São Paulo, Brasil. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1989; 31(1):32-39.
25. Tolezano JE, Taniguchi HH, Elias CR, Larosa R. Epidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no Estado de São Paulo: III. Influência da ação antrópica na sucessão vetorial da LTA. Rev Inst Adolfo Lutz. 2001; 60(1):47-51.
26. Silva LJ. Doença de Chagas no Brasil: sua expansão e fatores de risco. Perspectivas para um futuro próximo. Rev Patol Trop. 2000; 29(sup I):67-74.
27. Leite OF, Alves MJCP, Souza SSL, Mayo RC, Andrade V et al. *Triatoma infestans* em área sob vigilância para doença de Chagas, Estado de São Paulo, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 2001; 34(5):437-443.
28. São Paulo. Secretaria Estadual da Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância Epidemiológica, Leishmaniose tegumentar americana. São Paulo: CVE. 1995. p.28.
29. Basano SA, Camargo LMA. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. Rev Bras Epidemiologia. 2004; 3(7):328-337.
30. Gomes AC, Camargo-Neves VLF. Estratégia e perspectivas de controle da leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo. Rev Soc Bras Med Trop. 1998; 31(6):553-558.
31. São Paulo. Centro de Vigilância Epidemiológica - Divisão de Zoonoses. [acesso em 25 abr 2009]. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/lta_gve.htm.

Tabela 1. Número e percentual de flebotomíneos coletados por armadilhas luminosas e armadilhas de Shannon em municípios do Estado de São Paulo. 1939 a 1943 e 1985 a 1995

Espécie	1939 a 1943		1985 a 1995	
	Número de exemplares	%	Número de exemplares	%
<i>L. whitmani</i>	51591	44,0	2205	9,8
<i>L. pessoai</i>	33900	28,9	253	1,1
<i>L. migonei</i>	16952	14,5	662	2,9
<i>L. intermedia</i>	2451	2,1	18049	80,1
<i>L. fischeri</i>	8711	7,4	836	3,7
Outros	3657	3,1	518	2,3
Total	117262	100,0	22523	100,0



Figura 1. Distribuição de *Triatoma infestans* na década de 1950 (A) e *Lutzomyia intermedia* na década de 1940 (B). Estado de São Paulo

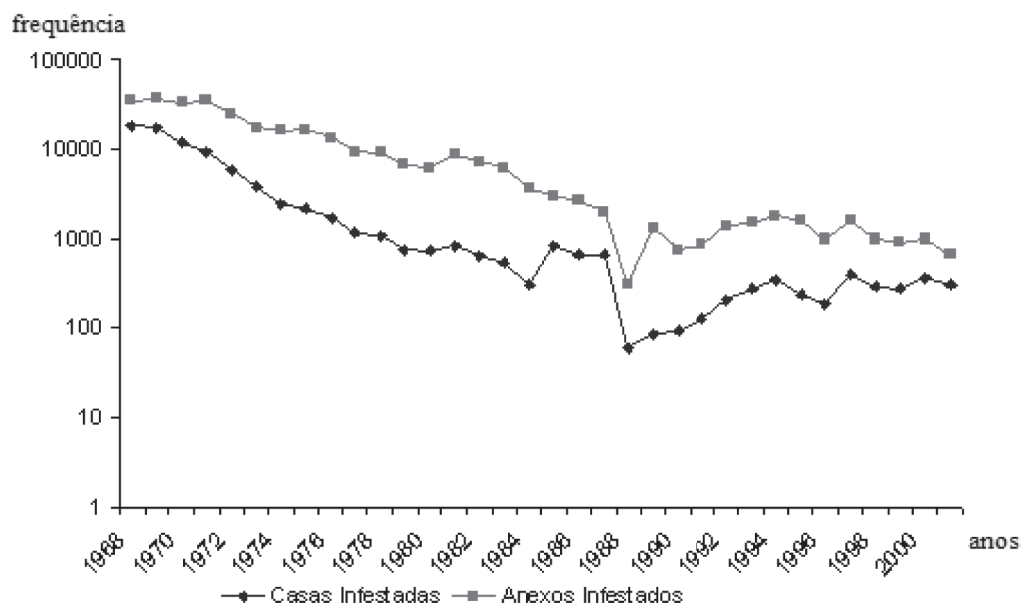


Figura 2. Casas e anexos infestados por triatomíneos no Estado de São Paulo, no período de 1968 a 2002



Figura 3. Distribuição de notificações de insetos no Programa de Controle da Doença de Chagas no período de 2004 a 2008 (A) e presença de flebotomíneos em áreas de leishmaniose tegumentar americana no período de 1995 a 2008 (B). Estado de São Paulo

DOENÇA DE CHAGAS: CLÍNICA E TRATAMENTO

Abilio Augusto Fragata Filho

Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia de São Paulo

Av. Dante Pazzanese 500 – Ibirapuera – São Paulo (SP) CEP 04012-980

11-5085-6435 / 6055

a.frag@terra.com.br

A doença de Chagas, descrita por Carlos Chagas em 1909, é causada por um protozoário – *Trypanosoma cruzi* – e transmitida ao homem e demais mamíferos, habitualmente através das fezes de inseto hematófago, triatomíneo, sendo o mais importante o *Triatoma infestans*. A transmissão por transfusão sanguínea foi a segunda forma mais prevalente de se contrair a infecção, admitindo-se em cerca de 20% dos casos. Já em 1911, o próprio Carlos Chagas sugeriu, mas sem demonstrar, a possibilidade de transmissão transplacentária, que só foi confirmada por Dao, na Venezuela, no final da década de 40. A transmissão oral descrita desde a década de 60 em Teutônia (RS) e, mais recentemente, na Paraíba, Santa Catarina (estas relacionadas à ingestão de caldo de cana contaminado) e na Amazônia (por suco de açaí), não se constituindo, todavia, em via importante de transmissão.

Esta enfermidade se caracteriza por duas fases: a aguda e a crônica. Já na segunda semana da infecção, o exame do soro se mostra diagnóstico, inicialmente com IgG, e posteriormente IgM. Na fase aguda há intensa parasitemia e inflamação, porém, com pouca expressão clínica, exceto em crianças pequenas, desnutridas e em pacientes outros, com estado geral comprometido. Esta fase perdura, geralmente, por oito a dez semanas, quando começa a diminuir significativamente a parasitemia e a inflamação (mas estas vão sempre existir, em maior ou menor intensidade).

Inicia-se a fase crônica. Os pacientes permanecem por um longo período (70% deles para toda a vida) sem sintomas, com eletrocardiograma, radiografia de tórax, enema opaco e esofagograma normais: é a forma indeterminada. Berenice, a criança em que Carlos Chagas descreveu a doença em 1909, permaneceu em forma indeterminada por toda a vida, vindo a falecer com mais de 70 anos de outras causas que não a doença de Chagas.

Ao redor de 30% dos acometidos desenvolverão as formas clínicas: a digestiva pode ser esofágica, com dificuldade progressiva para deglutir, inicialmente para sólidos, depois para pastosos e, em fases avançadas, para líquidos (megaesôfago); quando há comprometimento intestinal, há progressiva dificuldade para evacuar (megacolon). A forma cardíaca pode se apresentar de diversas maneiras, que didaticamente podem ser divididas em: predominantemente arritmogênica, predominantemente dilatada e mista. Qualquer arritmia pode ser encontrada nesta enfermidade, sendo as mais prevalentes, os bloqueios atrioventriculares (1º, 2º e 3º graus), bloqueios de ramo e/ou fascículos (o mais característico é o bloqueio do ramo direito associado ao bloqueio da divisão ântero-superior do ramo esquerdo do feixe de His) e a extrassistolia ventricular (isolada ou como taquicardia ventricular).

Na apresentação dilatada, ocorre falência progressiva da função ventricular, esquerda e direita, com insuficiência cardíaca que, inicialmente, é esquerda e direita e, nas fases mais avançadas, preferencialmente direita, com edema de membros inferiores, estase jugular, hepatomegalia, ascite etc.

O tratamento das arritmias pode se dar com o uso de antiarrítmicos e/ou estimulação artificial (marca-passo) e da insuficiência cardíaca obedece as diretrizes seguidas para o tratamento de outras etiologias.

Há casos em que coexistem os megas e a cardiopatia, com significativo aumento da morbimortalidade. As indicações para o tratamento parasiticida devem obedecer as diretrizes da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e podem ser divididas em consensuais (fase aguda, crianças, reativação, contaminação acidental) e não consensuais (forma indeterminada, particularmente em indivíduos jovens; previamente ao transplante de órgãos, quando o receptor é portador da doença de Chagas; na ausência de lesões graves em órgãos alvo, (particularmente no megaesôfago, onde o tratamento com medicação parasiticida é contraindicado).

A única medicação disponível com ação tripanossomicida é o Benzonidazol, apresentado em comprimidos de 100mg, devendo ser prescrito na dose de 7,5 a 10mg/Kg/dia por 60 dias em casos agudos ou crianças e 5mg/Kg/dia

por 60 dias em adultos crônicos (em indivíduos com peso maior que 60Kg é recomendado usar um máximo de 300mg/dia e aumentar o número de dias do tratamento, que deve ser igual ao peso, fazendo então a mesma dose total). Os efeitos colaterais com o uso deste fármaco são: dermatite urticariforme (30%), que geralmente responde bem aos antialérgicos ou doses baixas de corticoide, infreqüentemente necessitando suspensão do tratamento; polineuropatia (5%); leucopenia e anorexia ocorrem em menos que 2%. Em nossa experiência, a suspensão do tratamento por efeitos colaterais ocorreu em cerca de 8% dos casos (em casuística de pouco mais de 500 pacientes tratados).

Atualmente encontra-se em curso um estudo multicêntrico, randomizado, duplo cego, placebo controlado, avaliando o uso do benzonidazol quando já há comprometimento miocárdico, para avaliar se o tratamento parasiticida muda ou não a história natural da cardiopatia chagásica crônica (estudo BENEFIT).

Este estudo poderá concluir, baseado em evidências, o verdadeiro papel do tratamento etiológico da doença de Chagas.

Infelizmente só dispomos deste medicamento com ação tripanossomicida que não é eficaz em todos os casos e ainda tem muitos efeitos colaterais. A falta de empenho das nossas entidades médicas e governamentais, bem como a falta de interesse comercial da indústria farmacêutica têm mantido esta doença ainda com grande prevalência e morbimortalidade, comprometendo a vida e a produtividade de uma parcela significativa da nossa população.

LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA, MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO

Marcos Vinicius da Silva

Diretor da Divisão Científica do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é doença com gravidade variável, podendo manifestar-se com lesões graves e desfigurantes e, por ser doença sistêmica, pode ser fatal. A Organização Mundial da Saúde estima que anualmente ocorram dois milhões de novos casos humanos, pondo em risco 350 milhões de pessoas em 88 países, e que existam 12 milhões de infectados no mundo⁴. O quadro clínico da LTA é polimórfico podendo apresentar-se com diferentes expressões lesionais, inclusive num mesmo paciente. A forma clássica da doença é caracterizada pelo aparecimento de lesão papular eritematosa, que pode evoluir para a formação de nódulo com posterior ulceração e por último a formação de úlcera com borda infiltrada, de consistência cartilaginosa, regular, com a parte central de fundo granuloso, na cor vermelho intenso e indolor. A úlcera pode aparecer no local de inoculação do parasita pelo vetor do gênero *Lutzomia* spp, localizando-se em áreas corporais expostas, não cobertas pelas roupas. Outras vezes o parasita pode ser inoculado na pele, multiplicar-se no interior de macrófagos da mesma, sem causar lesão local e, posteriormente, disseminar-se para todo o organismo, comprometendo pele e mucosas. O mesmo pode ocorrer com a lesão existente no local de inoculação, chamada lesão primária, disseminando parasitas para outros sítios cutâneos e mucosos. A disseminação hematogênica do parasita é a responsável pela instalação deste em outras localizações anatômicas, originando o aparecimento de lesões na pele, em áreas cobertas por roupas, e também nas mucosas, locais onde o vetor não tem acesso. A forma clínica localizada na pele e com úlcera é a clássica, denominada de “úlcera de Bauru”. Esta denominação foi originária da grande incidência da doença que ocorreu na Região de Bauru, na época da construção da estrada de ferro, acometendo operários que trabalhavam na derrubada da mata para a construção da ferrovia.

No entanto, outras formas clínicas da doença são encontradas, muitas vezes, dificultando o diagnóstico, confundíveis com as manifestações clínicas de outras patologias. Na suspeita diagnóstica, os antecedentes epidemiológicos do paciente devem ser considerados, lembrando que hoje ocorreu a urbanização da doença.

Didaticamente, o quadro clínico da LTA pode se apresentar de quatro formas, classificado de acordo com a topografia e com a resposta imunológica do hospedeiro. Na forma cutânea há acometimento exclusivo da pele, podendo ocorrer remissão espontânea em alguns casos, dependendo da espécie e das diferentes cepas do parasita e da resposta imunológica do paciente. Na forma mucosa ocorre exclusivamente comprometimento mucoso, decorrente da disseminação hematogênica do parasita, geralmente mais grave que a forma cutânea, podendo causar grande destruição e deformidades no paciente. Nesses casos, a resposta imunológica do paciente costuma ser menos eficaz, com menor percentual de cura espontânea. A forma cutâneo-mucosa é uma forma intermediária entre as duas anteriores, ocorrendo tanto o comprometimento cutâneo como o das mucosas. Na forma anérgica ou difusa, há intenso comprometimento da pele, causando grandes deformidades que, muitas vezes, isolam o paciente do seu convívio familiar e social.

Na forma cutânea da LTA podemos encontrar lesões pápulo-eritematosas, pápulo-ulceradas, furunculoides, nodulares, vegetantes e ulcerosas, isoladamente, ou fazendo parte de quadro evolutivo. Na forma mucosa, podemos encontrar lesões ulcero-infiltrantes, poliposas e terebrantes, estas últimas causando grandes deformidades nos pacientes. Na forma cutâneo-mucosa são encontradas lesões pertencentes às duas formas clínicas citadas previamente. Na forma anérgica ou difusa, há intenso comprometimento da pele, com lesões inflamatórias difusas, acometendo extensas áreas cutâneas, podendo ocorrer a formação de nódulos, úlceras e vegetações. Esta forma da doença habitualmente é refratária aos tratamentos existentes para a doença, atualmente.

As doenças causadas pelo complexo “leishmanioses”, tanto na forma LTA como na visceral (calazar) (LV), são dependentes tanto das espécies do parasita, algumas mais agressivas, invasivas e destrutivas, outras com menor agressividade e menor atividade patogênica, e também da resposta imunológica do paciente, com importante

participação da resposta mediada por linfócito T. Outras doenças que comprometem o sistema imunológico podem funcionar como facilitadoras tanto para a manifestação clínica dessa zoonose, como para sua maior agressividade e disseminação. No Brasil, hoje, a associação entre leishmaniose e Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida (AIDS/SIDA) tem sido sério problema de saúde pública, podendo o quadro clínico da AIDS ser aberto por formas graves de leishmaniose, muitas vezes, com manifestações clínicas atípicas, com grande agressividade, alta letalidade e, também, com resposta terapêutica ruim ou sem resposta medicamentosa, com recidivas frequentes, necessitando de profilaxia secundária com drogas. Portanto, no nosso meio, a leishmaniose, independente da forma clínica, pode ser quadro definidor da AIDS, em pacientes com contagem de linfócitos T, CD_4^+ menor que 200 cel/mm de sangue.

Outra situação preocupante são os casos em pacientes idosos, que se encontram fora das áreas de transmissão da doença há anos e venham a desenvolvê-la. No nosso Serviço, procuramos exaustivamente a existência de comorbidades associadas, tais como, as doenças neoplásicas, pois a LTA pode se manifestar de forma oportunista e, se não diagnosticarmos e também tratarmos a(s) doença(s) de base, dificilmente teremos sucesso terapêutico na LTA ou na LV.

Na suspeita clínica desta doença, os antecedentes epidemiológicos do paciente são muito importantes, podendo auxiliar o médico na condução do caso, encurtando o tempo para a elucidação diagnóstica e a introdução da terapêutica adequada. A confirmação diagnóstica é laboratorial, com pesquisa do parasita no material coletado por raspado e/ou biópsia da borda da lesão. Deve-se realizar raspado da borda da lesão com o auxílio de tentacânula ou com lâmina de bisturi, tomando-se o cuidado de não contaminar o material com sangue, realizar esfregaço com este material em lâmina de vidro para microscopia, limpa e desengordurada, fixar o material e corar com a técnica de Giemsa ou de Leishman, para a pesquisa do parasita na microscopia. A biópsia da borda da lesão realizada com *punch* ou com bisturi, em cunha, pegando diferentes regiões (úlcera, borda e pele adjacente) e com profundidade incluindo a epiderme e derme, deve ser incentivada, com coleta de fragmentos de tecido para pesquisa e cultura do parasita, que deverá ser acondicionado em frasco estéril com solução fisiológica a 0,9% e encaminhado rapidamente ao laboratório ou em meio de cultura próprio (meio bifásico NNN). Outros dois fragmentos de tecido devem ser coletados, um deles deverá ser acondicionado em frasco contendo formol tamponado a 10%, que deverá ser encaminhado para exame histopatológico e imuno-histoquímico, o outro, em frasco estéril e novo para a detecção de DNA parasitário por técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). Outra possibilidade é a inoculação desse material em animais suscetíveis, como o hamster, em laboratório especializado^{3,7}.

A intradermorreação de Montenegro (IDRM) e as reações sorológicas são métodos auxiliares e, sozinhos, não nos permitem estabelecer o diagnóstico. A IDRM é importante recurso em inquéritos epidemiológicos e a sorologia no acompanhamento pós-tratamento.

No estabelecimento do plano de tratamento do paciente com leishmaniose devemos avaliar o estado geral do mesmo, a existência de doenças associadas, a idade do paciente e, em mulheres, a condição de gestação. Esses fatores associados e muito bem estudados, já que as medicações empregadas no tratamento da LTA apresentam importantes efeitos colaterais, auxiliarão o médico na escolha do tratamento. Em situações especiais pode-se realizar o tratamento local, geralmente de efeito estético, por se tratar de doença sistêmica, ou tratamento sistêmico. No tratamento local podemos empregar topicamente drogas como a paromomicina e o imiquimode, ou técnicas como a crioterapia, a termoterapia e o laser de CO_2 . Os medicamentos administrados por via oral como os derivados azólicos, a miltefosine, a pentoxifilina e a azitromicina, não mostraram resultados aceitáveis no Brasil. Outro recurso terapêutico é a imunoterapia onde empregamos antígenos do parasita, obtidos de promastigotas, associado ao BCG⁵ ou em tríplice associação acrescida de interferon δ . O tratamento mais frequentemente empregado e com melhores resultados utiliza o antimoniato de N-metil-glucamina por via intramuscular ou endovenosa. Outra droga também utilizada é a Anfotericina B, considerada segunda opção, tanto na apresentação clássica de desoxicolato de sódio como na lipossomal, ambas de administração endovenosa. A pentamidina é outro recurso terapêutico empregado no tratamento deste parasita, por via sistêmica, muito pouco utilizado por apresentar efeitos colaterais importantes^{6,7}.

Nos pacientes coinfectados com leishmaniose e AIDS¹ (com contagem de linfócitos $CD_4^+ < 500$ cel/mm³) ou em uso de drogas imunossupressoras² ou de quimioterapia, após o tratamento da leishmaniose, deverá ser

instituída profilaxia secundária com antimoniato de N-metil-glucamina ou anfotericina B, com a finalidade de prevenir recidivas da doença.

O acompanhamento ambulatorial dos pacientes, pós-tratamento, deverá ser mensal nos três primeiros meses, depois, a cada dois meses, até completar um ano e, por fim, a cada seis ou doze meses. Nas consultas eles serão avaliados clínica e laboratorialmente.

No tratamento da leishmaniose ainda necessitamos de medicamentos melhores do que dispomos no presente, além deles, precisamos de políticas públicas mais eficazes e justas, que possibilitem diminuir a grande desigualdade social e o analfabetismo reinante neste País, resgatando urgentemente a democracia, a cidadania e a ética, que sem dúvida inverterão as práticas curativas atuais por ações preventivas.

Referências bibliográficas

- 1) Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, Den Boer M, Cañavate C, Dedet JP, Gradoni L, Ter Horst R, López-Vélez R, Moreno J. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin Microbiol Rev.* 2008; 21(2):334-59.
- 2) Antinori S, Cascio A, Parravicini C, Bianchi R, Corbellino M. Leishmaniasis among organ transplant recipients. *Lancet Infect Dis.* 2008; 8(3):191-9.
- 3) Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Atlas de leishmaniose tegumentar Americana: diagnósticos clínico e diferencial. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 136. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
- 4) Kedzierski L, Sakthianandeswaren A, Curtis JM, Andrews PC, Junk PC, Kedzierska K. Leishmaniasis: current treatment and prospects for new drugs and vaccines. *Curr Med Chem,* 2009; 16(5):599-614.
- 5) Launois P, Tacchini-Cottier F, Kieny MP. Cutaneous leishmaniasis: progress towards a vaccine. *Expert Rev Vaccines.* 2008; 7(8):1277-87.
- 6) Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar americana. Brasília: Ministério da Saúde 2007. 2:180. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
- 7) Schriefer A, Wilson ME, Carvalho EM. Recent developments leading toward a paradigm switch in the diagnostic and therapeutic approach to human leishmaniasis. *Curr Opin Infect Dis.* 2008; 21(5):483-8.

LEISHMANIOSE TEGUMENTAR E DOENÇA DE CHAGAS: UMA VISÃO DA RESPOSTA IMUNE *IN SITU* DO HOSPEDEIRO NO LOCAL DAS LESÕES – O DIAGNÓSTICO IMUNE TECIDUAL

Maria Irma Seixas Duarte - miduarte@usp.br

Professora Titular do Departamento de Patologia da FMUSP

A trajetória das doenças infecciosas no século passado passou por vários episódios de euforia frente ao relativo sucesso de medidas de controle implantadas.

Assim, no início do século XX os bons resultados obtidos com a prevenção da Malária levaram muitos pesquisadores a acreditar na possibilidade de que o homem venceria o desafio representado pelas doenças infecciosas. A constatação induziu o secretário da USA a afirmar em 1948, que “o mundo agora tem meios de **erradicar** as doenças infecciosas”. A meta mundial seria erradicar as doenças infecciosas com prazo estipulado para o ano 2000. Paralelamente, desenvolveu-se a crença de estabilidade dos agentes infecciosos. Eis que surgiu, na contramão das crenças e propósitos, a epidemia de AIDS e a imensa e global problemática das doenças emergentes e re-emergentes, com a importância e complexidade que ora estamos convivendo.

Estamos ainda assistindo, especialmente nos países em desenvolvimento, as dificuldades imensas que as políticas de saúde estão enfrentando para lidar com as chamadas Doenças negligenciadas e extremamente negligenciadas, entre as quais estão incluídas a Leishmaniose e a Doença de Chagas. O melhor entendimento dos diversos aspectos dessas duas doenças tem sido a contribuição decisiva e fundamental de muitos pesquisadores do nosso país. Um grande desafio que agora se impõe à comunidade científica e assistencial é o de enfrentar ocorrência da Leishmaniose e Doença de Chagas em pacientes imunocomprometidos quer seja por doenças que diretamente propiciam deficiências do sistema imune, quer seja aquelas cujo comprometimento se segue a procedimentos terapêuticos medicamentosos ou por transplantes. As manifestações clínicas, a resposta imune dos pacientes e os aspectos anátomo-patológicos nessa nova situação são completamente diferentes daquelas já bem conhecidas.

Pode-se ponderar que a medicina repousa sobre três pilares quais sejam: um, a coluna constituída por sinais e sintomas das doenças; outro envolvendo a terapêutica; e o terceiro, que também é base dos demais, e que representa o conhecimento da patogenia das doenças. Evidentemente, assim sendo, se faz necessária ampla interação entre as informações disponíveis relativas ao agente, seu ciclo evolutivo, epidemiologia, ecologia, história natural das doenças e a resposta imune do hospedeiro.

Recentemente tem se desenvolvido o conceito de que a resposta imune não é a mesma nos diferentes sistemas e tecidos. A resposta imune é, portanto, órgão específica e se adapta à manutenção da fisiologia de cada órgão. Desse modo, concretiza-se, frente a uma mesma doença, uma compartimentalização da resposta imune do hospedeiro em decorrência das características peculiares de cada órgão.

Outra noção deve ser considerada, ou seja, o que se pode aferir no sangue periférico, nem sempre é o que está ocorrendo na intimidade dos tecidos. A AIDS nos chamou inicialmente a atenção para a veracidade dessa noção e nos permitiu verificar com propriedade esse fato através da análise das biopsias.

Considerando-se essa premissa, é apropriado aferir-se o que está ocorrendo *in situ* na intimidade das lesões teciduais.

É imprescindível que se faça um retrato do combate nos locais das lesões teciduais, bem como é necessária a caracterização dos soldados participantes e suas armas. Deve-se, portanto, no sítio das lesões dos tecidos: demonstrar o agente infeccioso por metodologias pertinentes, identificar e abalizar o processo inflamatório pertinente, correlacionar os dados clínicos e anatomopatológicos e caracterizar a resposta imune do hospedeiro no sítio da lesão.

De acordo com o acima exposto, julgo que a Patologia deve acrescentar às suas atribuições a efetivação do diagnóstico imunológico *in situ* das lesões provocadas por agentes infecciosos. O conhecimento do tipo de lesão

no tecido, do fenótipo das células envolvidas no processo infeccioso e o padrão de citocinas expressas, certamente fornecerão ao clínico ferramentas importantes para modular os fenômenos lesivos, determinados pela interação local hospedeiro-agente.

Será demonstrado o tipo de comprometimento observado em lesões mucosas verificado na Leishmaniose tegumentar americana, o escasso parasitismo, quais as células envolvidas no processo, a formação de granulomas epitelioides, o denso infiltrado inflamatório mononuclear destrutivo para o hospedeiro, a reatividade hiperplásica do epitélio, a formação de úlceras, aliados ao padrão de expressão local de citocinas que traduz a resposta hiperérgica do indivíduo e suas correlações. Em contraposição e comparativamente, será exposto o tipo de resposta tecidual encontrado em indivíduos imunocomprometidos com Doença de Chagas e envolvimento cutâneo. Em antagonismo, será evidenciada a pobre reação inflamatória com predomínio de macrófagos, presença de grande quantidade de formas amastigotas de *T. cruzi*, e as citocinas participantes localmente do envolvimento cutâneo.

Será enfatizada a recomendação precípua para feitura do diagnóstico imunológico das lesões teciduais.

LEISHMANIOSE TEGUMENTAR E DOENÇA DE CHAGAS. EXPECTATIVAS E PERSPECTIVAS EM UM MUNDO EM TRANSFORMAÇÃO

Perspectives and Expectations of Cutaneous Leishmaniasis and Chagas Disease in a changing world

Jeffrey Shaw jayusp@hotmail.com

Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 05508-000 São Paulo, SP. Brazil

Transformations in the environment are primarily linked to man's activities but how do they affect two important vector borne endemic diseases, such as cutaneous leishmaniasis and Chagas Disease? Some may bring him into greater contact with the vectors, while others may modify the environment, creating ecological niches that favor the reproduction of the vector and the reservoir. Following this there is a potential increase in the vector population which may result in epidemic situations that are difficult to control due to their rapid appearance and magnitude.

The professional activities that bring man into contact with zoonotic ecotopes range from research scientists to personnel of the armed forces who are either on training manoeuvres or military campaigns. However, besides this other individuals are forced to leave their native environment due to war or social pressures caused by natural disasters, such as droughts. In such cases they may be exposed to infection when they enter the enzootic's environment or introduce the disease into non-endemic areas. Examples of these situations abound in the cutaneous leishmaniasis literature on both sides of the Atlantic.

Similarly these same principals apply to Chagas disease in the Americas.

With globalization tourists are an important source of income in areas that are endemic for both cutaneous leishmaniasis and Chagas disease. Diagnosis and treatment may be difficult for them, since their symptoms often appear when they are arrive back home where the disease is unknown.

In the presentation examples are given of different situations in which innovations in the transmission of both cutaneous leishmaniasis and Chagas disease are linked to behaviour or changes in the environment.

So what can we expect in the future? Climate and ecological changes will create more ecotopes that are propitious for both sand flies and triatomid bugs as well as reservoirs, especially within the peridomestic and domestic environments, which will increase transmission. So the challenge is to identify these situations and evaluate the feasibility of control measures. To do this it is essential that the dynamics of the enzootic cycles are known which in most cases they are not.

DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DA DOENÇA DE CHAGAS

Chagas's disease parasitological diagnosis

Maria de Fátima Lerenó de Araújo, Elizabeth Visone Nunes Westphalen, Márcia da Conceição Bisugo, Elaine Aparecida Cunha, Sansão da Rocha Westphalen, Antonio Marcos de Aparecida Levy
mlerenó@uol.com.br

Resumo

A infecção por *Trypanosoma (Schizotripanum) cruzi* não causa sinais patognomônicos e mais da metade dos infectados não manifesta os principais sintomas da doença de Chagas, seja ela cardíaca ou digestiva. Os primeiros métodos de diagnóstico desenvolvidos foram os métodos parasitológicos. Em 1909, Carlos Chagas baseou-se no achado do *T. cruzi* em uma criança, para afirmar que este agente era o responsável pelas manifestações clínicas descritas. Tratava-se de fase aguda da doença e a pesquisa direta de *T. cruzi* no sangue periférico continua, 100 anos após, sendo realizada da mesma forma. O xenodiagnóstico, descrito por Brumpt em 1914, passou a ser utilizado rotineiramente somente após sua padronização em 1974. Na fase crônica, na qual a parasitemia é baixa, estas metodologias apresentam alta especificidade e baixa sensibilidade, contribuindo para a exclusão de reações sorológicas cruzadas, avaliação de tratamento e isolamento e caracterização de cepas. Todavia, devido à baixa sensibilidade, um exame negativo não afasta a possibilidade de infecção. Por outro lado, um exame positivo é um diagnóstico de certeza indiscutível. Na década de 1990, a reação em cadeia da polimerase (PCR) passa a ser recomendada como teste confirmatório. A disponibilidade nos laboratórios, o custo operacional e financeiro limitam a utilização de várias provas diagnósticas nas duas fases da infecção. Sendo assim, há 100 anos, os exames parasitológicos continuam a colaborar com a elucidação de casos suspeitos desta importante tripanossomíase.

Palavras-chave: Doença de Chagas, diagnóstico parasitológico, *Trypanosoma (Schizotripanum) cruzi*, centenário da doença de Chagas.

Abstract

The *Trypanosoma (Schizotripanum) cruzi* infection doesn't cause pathognomonic signs and the great number of infected persons doesn't show the main Chagas' disease manifestations, neither cardiac nor digestives. The first diagnosis are parasitological methods. In 1909, Carlos Chagas, observed *T. cruzi* infection in a child and affirmed to be this the etiological agent the responsible by the Chagas' disease symptoms. It was the acute phase and the method for identification of *T. cruzi* by direct examining anticoagulated blood continues to be in use as the same way, after one hundred years. The xenodiagnosis was described by Brumpt in 1914. Its frequent utilization started only in 1974 after standardization. In the chronic Chagas' disease the parasites level in the circulatory blood system is low. These methods present high specificity and low sensitivity having a role in: resolve cross-reaction serologic results, treatment evaluation, parasite isolation and specimens characterization. However due to the low sensitivity a negative result doesn't mean no infection. In the other hand a positive result is a indisputable certain diagnosis. The diagnosis via polymerase chain reaction – based assays has been studied since 1990. Then it was indicated to be used as a confirmation method. Many diagnosis techniques have limited use in routine in the both infection phases due to the need of specific laboratory facilities, high financier and operational costs. In this way in a period of one hundred years the parasitological tests have been collaborated to detected the suspect cases of this important trypanosomiasis.

Key-words: Chagas's disease, parasitological diagnosis, *Trypanosoma (Schizotripanum) cruzi*, Chagas's disease centenary.

INTRODUÇÃO

O diagnóstico da infecção pelo *Trypanosoma (Schizotripanum) cruzi*, assim como para infecções por outras etiologias, tem como base três parâmetros distintos: as manifestações clínicas que, quando presentes, permitem

ao clínico suspeitar da infecção; os antecedentes epidemiológicos, que também induzem à suspeita; e os métodos de diagnóstico, em geral laboratoriais, que permitem confirmar ou excluir a suspeita diagnóstica na maioria das situações. Como a doença de Chagas não apresenta nenhum sinal patognomônico, o seu diagnóstico repousa sobre a confirmação pelos dados laboratoriais da suspeita clínica. Na infecção por *T. cruzi*, mais da metade dos infectados não apresenta as principais manifestações da doença de Chagas, seja ela cardiológica ou digestiva^{1,2,3}.

Os primeiros métodos de diagnóstico desenvolvidos foram os métodos parasitológicos. Carlos Chagas baseou-se no achado do *T. cruzi* em uma criança de nome Berenice, para afirmar que este agente era o responsável pelo quadro clínico anteriormente descrito⁴. Tratava-se de fase aguda da doença, e a pesquisa direta de *T. cruzi* no sangue periférico continua, 100 anos após, sendo realizada da mesma forma⁵.

O diagnóstico parasitológico pode ser aplicado nas duas fases da doença. Na fase aguda, em decorrência da elevada parasitemia, os diferentes métodos utilizados apresentam alta sensibilidade. Já na fase crônica, quando a parasitemia é mais escassa esta modalidade de diagnóstico, por ser altamente específica, visa à exclusão de reações sorológicas cruzadas, avaliação de tratamento e isolamento e caracterização de cepas^{1,2,3,6,7}.

Métodos diretos de diagnóstico parasitológico

O exame a fresco é o método mais simples para o diagnóstico parasitológico. Neste método, uma alíquota de sangue heparinizado (5 µL) obtida por punção venosa ou digital, é examinada entre lâmina e lamínula, ao microscópio óptico, em aumento de 400x. As coletas devem ser semanais, durante as seis primeiras semanas da doença. Este deve ser o método de primeira escolha para o diagnóstico na fase aguda, quando se verifica a alta parasitemia. É um dos métodos mais sensíveis (34% a 79%) e também o mais acessível sob todos os aspectos. Apresenta sensibilidade limitada na fase crônica quando a parasitemia é escassa^{1,2,3,5,8}.

Para melhor visualização do parasita, técnicas de coloração podem ser utilizadas com corantes panópticos como Giemsa ou Leishman. Um esfregaço é confeccionado com sangue heparinizado (5 µL) colhido da mesma forma que para pesquisa direta, ou uma gota espessa é obtida pela técnica para pesquisa de hematozoários; sendo ambas as preparações observadas ao microscópio com aumento de 400x ou 1000x^{1,2,3,5,8}.

Estas metodologias de coloração são importantes para diferenciar as forma de *T. cruzi* das de *T. (Herpetosoma) rangeli* em regiões onde existam as duas infecções. *T. cruzi* exibe dimensão menor (15 a 20 µm) do que *T. rangeli* (26 a 34 µm). Quando observados a fresco, também podem ser diferenciados pela movimentação rápida e sinuosa, de *T. cruzi*, e lenta, de *T. rangeli*^{3,9,10}.

As metodologias acima descritas alcançam alta sensibilidade na fase aguda e são frequentemente utilizadas na pesquisa de transmissão transfusional^{3,5,8,10}.

Existem ainda os métodos de concentração do sangue representados pelas técnicas de micro-hematócrito, teste de Strout, QBC (Quantitative Buffy Coat) e técnica de Ficoll-Hypaque que aumentam a possibilidade de detecção de baixas parasitemias^{2,3}.

Para o micro-hematócrito o sangue é centrifugado em tubo capilar heparinizado, prosseguindo-se a sua observação, ao microscópio, na interfase entre o plasma e as hemácias para o encontro dos parasitas no creme leucocitário. O capilar deve ser cortado na região dessa interfase, e o creme leucocitário observado entre lâmina e lamínula. Este procedimento, porém, oferece risco de transmissão acidental e o técnico deve estar atento às regras de biossegurança^{1,2,3}.

Na técnica de Strout são utilizados 5 a 10 mL de sangue obtidos sem anticoagulante, permitindo-se a sua coagulação. O soro, livre do coágulo, é submetido à dupla centrifugação; a primeira à 160 g por 3 minutos. Logo após, o sobrenadante é transferido para outro tubo e centrifugado, pela segunda vez, à 400g por 5 minutos para observar-se o sedimento ao microscópio³.

O *Quantitative Buffy Coat Method*[®] (QBC) é uma técnica de concentração mais utilizada para pesquisa de plasmódios, cujo modelo também foi aplicado à doença de Chagas. O sangue é centrifugado em tubo capilar impregnado com corante vital laranja de acridina que cora os núcleos das células, especialmente o DNA. As formas

tripomastigotas são observadas em um microscópio para fluorescência a 490nm^{2,3}. Desde as avaliações realizadas por Amato Neto e colaboradores, em 1996, os kits de QBC não são encontrados tão facilmente no Brasil, pelo seu alto custo^{3,11}. Uma alternativa é a coloração por meio de azul de metileno, que também é um corante vital, e sua observação pode ser realizada em qualquer microscópio de boa qualidade¹².

A técnica de Ficoll-Hypaque consiste na centrifugação do sangue heparinizado sobre um gradiente de Ficoll-Hypaque, mistura de polissacarídeos hidrofílicos neutros, à 400g por 20 minutos, podendo-se encontrar os parasitas na interfase, entre o plasma e o ficoll, na camada dos mononucleares³.

Os testes de concentração do sangue apresentam 80 a 90% de sensibilidade e são recomendados quando houver forte suspeita de doença de Chagas aguda e o exame direto a fresco for negativo. Em caso da presença de sintomas, há mais de trinta dias, os métodos de concentração devem ser a primeira escolha, devido ao declínio da parasitemia com o passar do tempo. Esses métodos são também os eleitos para o diagnóstico em recém-nascidos com infecção congênita pesquisando-se a medula óssea e líquido cefalorraquidiano. Nos pacientes imunocomprometidos a pesquisa do parasita deve ser realizada em outros fluidos biológicos ou tecidos^{3,8}.

Os métodos parasitológicos diretos devem ser empregados em toda a suspeita de fase aguda por qualquer forma de transmissão, observando-se a duração estimada da parasitemia^{2,5,8,13}. Na transmissão vetorial, a parasitemia é variável sendo maior até 60 dias de evolução da doença^{3,5}; na transfusional é muito elevada, com decréscimo aos 70 a 120 dias, e a doença de base, que demandou a transfusão, contribui para esta manifestação^{16,44}; na congênita, alguns estudos mostram correlação entre parasitemia e persistência de anticorpos até 6 a 9 meses de vida, devendo-se realizar a sorologia após esse período se os exames parasitológicos forem negativos^{3,5,8,14,16}; na oral, atualmente, a forma mais frequente de transmissão no Brasil, a suspeita de infecção costuma ser negligenciada, havendo maior possibilidade de exames parasitológicos negativos^{15,17,18}; na reativação da fase crônica em indivíduos imunocomprometidos, especialmente por HIV, a parasitemia é elevada com disseminação dos parasitas até o sistema nervoso central sendo indicada a pesquisa do líquido e até de outros fluidos biológicos pelo exame direto a fresco; em acidentes de laboratório a maioria dos casos apresenta positividade ao exame a fresco, se negativo, devendo-se fazer os exames de concentração de sangue^{3,5,8,13}.

A obtenção de um exame direto positivo depende do tempo de evolução da doença e do mecanismo de transmissão. Nos primeiros dez dias esses exames são frequentemente negativos e, após trinta dias do início dos sintomas, os parasitas circulantes decrescem sendo necessário o exame de várias lâminas ou de exames sucessivos^{3,8}.

Métodos indiretos de diagnóstico parasitológico

Os métodos indiretos são métodos que visam a ampliar a parasitemia. Como são demorados seu uso é mais recomendado na fase crônica^{3,19}.

O xenodiagnóstico, descrito por Brumpt em 1914, inicialmente foi pouco utilizado²⁰. As primeiras referências do emprego desse método no diagnóstico da doença de Chagas são de Torrealba, na Venezuela, em 1934; de Emmanuel Dias, no Brasil, em 1940 e de Bacigalupo, na Argentina, em 1936⁵. O método só passou a ser utilizado rotineiramente após sua padronização por Cerisola e colaboradores, em 1974²¹. A partir de então foi um dos métodos indiretos mais submetidos a sucessivas revisões até hoje, visando à otimização dos resultados^{19,22-29}. Consiste na alimentação de ninfas de triatomíneos de qualquer espécie, principalmente *Triatoma infestans*, uma das mais adaptadas às condições de criação e manutenção em laboratório, com sangue do paciente²⁵⁻³¹. O xenodiagnóstico pode ser natural ou artificial. Para o xenodiagnóstico natural são utilizadas de 30 a 40 ninfas, de 3º e 4º estágio, em jejum, de 15 a 25 dias, contidas em frascos de plástico protegidos por tela de filó. Quando são escolhidas ninfas de *D. maximus*, uma espécie que tem grandes dimensões, utilizam-se ninfas de 1º estágio. Estes frascos são aplicados sobre a pele de braços e antebraços do paciente por 30 minutos ou até a repleção das ninfas^{2,3,5}. As ninfas de 3º e 4º estágio chegam a aumentar até cinco vezes o seu peso corpóreo; de 8 a 11 mg para 48 a 61 mg, e de 28 a 45 mg para 136 a 179 mg, respectivamente³².

O xenodiagnóstico artificial foi uma variação introduzida para evitar reações de hipersensibilidade em pacientes alérgicos ou imunocomprometidos, pacientes estes que aumentaram em número com o advento da síndrome da

imunodeficiência adquirida (AIDS). Esta metodologia evita o desconforto do contato do paciente com os insetos³³⁻³⁵. A utilização do xenodiagnóstico artificial possibilita o uso de espécies como *Rhodnius sp* e *T. palidipennis* que são altamente suscetíveis ao parasita³⁶.

Nesta técnica o sangue (cerca de 8 mL) é colhido com anticoagulante, preferencialmente heparina, colocado em frasco vedado com filme plástico especial ou condom, sem espermicidas e lubrificantes e oferecido às ninfas contidas em outro frasco³⁷⁻³⁹. No Laboratório de doença de Chagas do Instituto Adolfo Lutz segue-se a seguinte metodologia: o sangue colhido é colocado em frasco de borrel, aquecido a 37° C e vedado com filme plástico comum. O sangue é oferecido às ninfas contidas em outro frasco. O conjunto de frascos é envolto por serpentinas plásticas por onde passa água aquecida por banho-maria a 37°C, por quarenta e cinco minutos, (aparato desenvolvido no laboratório de doença de Chagas do Instituto Adolfo Lutz). Neste mesmo laboratório o xenodiagnóstico natural é aplicado somente em animais silvestres⁴⁰.

Após o repasto sanguíneo natural ou artificial os frascos com ninfas são mantidos em insetário climatizado a 26-28°C e umidade de 75 a 85%. As fezes obtidas por compressão abdominal são examinadas no método artificial aos 25, 35 e 60 dias, após o repasto, e no natural 30 e 60 dias, após a alimentação. As fezes são colocadas com uma gota de solução fisiológica entre lâmina e lamínula para observação ao microscópio com aumento de 400x para observação de tripomastigotas metacíclicas e também de epimastigotas, que podem ser vistas em caso de compressão muito intensa. A periodicidade do exame das ninfas e a forma de obtenção das fezes (compressão individual, em “pool” ou por dissecação dos insetos) variam de acordo com a experiência de cada autor^{3,41}. Em nosso laboratório realiza-se o exame individual que permite melhores resultados, uma vez que o uso de “pool” de fezes pode diluir as amostras, no caso de baixa parasitemia.

Quando utilizado na fase aguda, para evitar a demora nos resultados, a primeira observação pode ser antecipada para cerca de 15 dias após o repasto. Em nossa prática rotineira, além do exame do material fecal, faz-se a dissecação de algumas ninfas, com leitura do conteúdo intestinal. A sensibilidade do xenodiagnóstico na fase aguda é de 85 a 100 % e na maioria dos serviços, quando aplicado em pacientes crônicos, é de 50%. A especificidade também é alta, excetuando-se os casos de infecção por *T. rangeli* e a possibilidade de contaminação do insetário por *Blastocrithidia triatomae* um parasita de triatomíneos^{3,42}. As formas epimastigotas de blastocritídias são aparentemente iguais às de *T. cruzi*, com a diferença de que são mais numerosas, apresentam grande número de vacúolos em seu citoplasma e um flagelo longo ao qual podem estar aderidas formas encistadas assemelhadas à bandeirinhas de São João (*straphangers*)⁴³.

A hemocultura é um método indireto introduzido como diagnóstico parasitológico desde a década de 1940. Apresentava resultados bem inferiores ao xenodiagnóstico, não sendo então muito utilizado. Os resultados eram comprometidos, pois o sangue total era semeado em grande quantidade em poucos tubos, o que inibia o desenvolvimento das formas de *T. cruzi*^{3,5}. Após os trabalhos de Chiari e Brener, em 1966⁷, com sucessivos aperfeiçoamentos, revistos por Chiari, em 1992, voltou a ser empregado até os dias de hoje com resultados comparáveis aos do xenodiagnóstico^{44,45}. Várias modificações foram introduzidas e, atualmente, existe um consenso quanto a algumas variáveis: o volume de sangue a ser semeado deve ser de 20 a 30 mL; o anticoagulante mais usado é a heparina na concentração de 10 unidades/mL; o processamento do sangue deve ser imediatamente após centrifugação a 4°C; a separação e o descarte do plasma é fator indispensável, pois os anticorpos e o complemento podem lisar os parasitas; a semeadura somente de hemácias e do creme leucocitário é realizada em vários tubos (em geral seis tubos), para evitar a contaminação de todo o material. O meio LIT (*Liver Infusion Tryptose*) é o mais empregado e as culturas são mantidas em estufa a 28 °C para serem observadas mensalmente até 90 ou 120 dias. Para o diagnóstico da fase aguda, é interessante realizar leituras precoces (cerca de 15 dias)^{3,46}.

A hemocultura da mesma forma que o xenodiagnóstico é empregada para o isolamento de cepas, avaliação de tratamento e para a realização de estudos de caracterização biológica e bioquímica dos parasitas^{40, 47, 48}.

Os exames parasitológicos indiretos podem ser empregados também em estudos de campo e experimentais com diferentes mamíferos silvestres, para o isolamento e monitoramento das cepas circulantes em diferentes regiões⁴⁰.

A xenocultura é uma metodologia que consiste em semear o trato digestivo obtido por dissecação dos triatomíneos positivos no xenodiagnóstico, em meios de cultivo bifásicos, mantidos em estufa a 28 °C com observação semanal até 30 dias. Esta prática é indicada para otimizar o isolamento de cepas e não comumente para o diagnóstico de rotina^{40,49}.

A inoculação em animais suscetíveis era praticada com frequência em décadas passadas. Na fase crônica da tripanossomíase, nos primeiros anos após a sua descoberta, o diagnóstico de laboratório era feito por inoculação do sangue dos pacientes em cobaias. Chagas descreveu a presença de formas parasitárias esquizogônicas no pulmão destes animais infectados, julgando serem formas de *T. cruzi*. Este achado passou a constituir um método diagnóstico na infecção experimental de cobaias até 1913, quando foi demonstrado que se tratava, na verdade, de outro parasito, o *Pneumocystis carini*, e o método foi abandonado⁵. Atualmente esta metodologia é pouco utilizada na rotina diagnóstica. Um dos fatores limitantes é a necessidade da existência de biotérios para manutenção de animais isogênicos, como os camundongos BalbC, mais suscetíveis ao *T. cruzi*. Porém, quando há a possibilidade de sua execução, a maior possibilidade de sucesso é alcançada com a inoculação de sangue de paciente na fase aguda. São colhidos 5mL de sangue heparinizado e se procede a inoculação intraperitoneal de 0,1 mL desse sangue em camundongos machos jovens (1 mês), por serem considerados mais suscetíveis. Prossegue-se então com a observação diária do sangue retirado da cauda dos animais por 30 dias. Mesmo tendo o inóculo sido sangue de paciente em fase aguda, a parasitemia nos camundongos é baixa e persiste durante alguns poucos dias. Este método é mais utilizado em institutos de pesquisa para estudos experimentais. Pouco usado em diagnóstico de rotina, mas, todavia, é mais uma alternativa diagnóstica, quando os métodos diretos são negativos, tanto na fase aguda quanto na crônica^{2,3,5}.

Pela reação em cadeia da polimerase (PCR), a partir da década de 1990, são amplificados os ácidos nucleicos do parasita^{3,8}. O método pode ser aplicado em sangue de pacientes, fezes de triatomíneos^{50,51} ou outros materiais biológicos, com alta sensibilidade, considerada por alguns autores, superior as do xenodiagnóstico e hemocultura⁵². Este método é indicado, acoplado à hibridização com sondas moleculares, como teste confirmatório, por ter apresentado resultados promissores. E, além disso, quando houver forte suspeita de fase aguda e os parasitológicos diretos forem negativos existe a indicação da associação do diagnóstico molecular às técnicas sorológicas (dosagem de anticorpos IgM). Na fase crônica também deve ser empregado quando os testes sorológicos forem duvidosos e ainda para controle de cura após tratamentos e em regiões onde existe infecção por *T. rangeli*. Porém, existe a preocupação quanto à especificidade, quando realizado em serviços de rotina. Acrescendo-se o fato de não estar disponível comercialmente. Portanto, os resultados obtidos, para terem valor diagnóstico, devem ser oriundos de instituições que compõem a rede nacional de referência para diagnóstico da infecção e controle de qualidade^{8,45,53}.

Conclusão

Os métodos parasitológicos apresentam uma sensibilidade pouco desejável. Um exame negativo não afasta a possibilidade da infecção, no entanto, um resultado positivo tem valor diagnóstico absoluto e confirma de forma indiscutível a infecção por *T. cruzi* excetuando-se a infecção por *T. rangeli*.

Todos os exames indiretos são considerados laboriosos, de custo elevado, não estando disponíveis em laboratórios comuns de análises e não sendo indicados como primeira escolha no dia a dia para o diagnóstico da fase crônica; mas a repetição seriada destas provas permite o aumento da positividade, otimizando os resultados.

A escolha do método diagnóstico para as duas fases da doença de Chagas depende das facilidades existentes em cada laboratório ou institutos de pesquisa, e o ideal seria a utilização dos vários métodos disponíveis simultaneamente.

Pode-se, então, concluir que na época comemorativa do centenário da descoberta da doença de Chagas, e considerando-se os conhecimentos atuais, os exames parasitológicos, alguns deles também desenvolvidos há 100 anos, continuam a colaborar para elucidar situações clínicas e epidemiológicas sugestivas da transmissão desta tão importante tripanossomíase.

Referências

1. Chiari E, Galvão LMC. Diagnóstico parasitológico da doença de Chagas. In: Dias JCP, Coura JR. Clínica e terapêutica da doença de Chagas. Uma abordagem prática para o clínico geral. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 1997: 85-97.
2. Ferreira AW, Ávila SLM. Doença de Chagas. In: Ferreira AW, Ávila SLM. Diagnóstico das principais doenças infecciosas e auto imunes. Rio de Janeiro: Ed Guanabara Koogan, 1996. 144-49.
3. Luquetti AO, Rassi A. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. In: Brener Z, Andrade ZA, Barral-Netto M. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. Rio de Janeiro: Ed Guanabara Koogan, 2000. 2: 344-78.
4. Chagas C. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n.gen., n.sp. agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1909; 1:159-218.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. Doença de Chagas. [acesso 06 julho 2009]. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=130>.
6. Castro CN. Influência da parasitemia no quadro clínico da doença de Chagas. Rev Pat Trop. 1980; 9:73-136.
7. Chiari E, Brener Z. Contribuição ao diagnóstico parasitológico na doença de Chagas na sua fase crônica. Rev Inst Med Trop S Paulo. 8: 134-38.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância em Saúde. Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. Rev Soc Bras Med Trop. 2005; 3-29.
9. Gurgel-Gonçalves R, Ramalho ED, Duarte MA, Palma ART, Abad-Franch F et al. Enzootic transmission of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Federal District of Brazil. Rev Inst trop S. Paulo. 2004; 46 (6): 323-30.
10. Ramirez LE, Machado MI, Maywald PG, Matos A, Chiari E, Silva EL. Primeira evidência de *Trypanosoma rangeli* no sudeste do Brasil, região endêmica para doença de Chagas. Rev Soc Bras Med Trop. 1998; 31(1): 99-102.
11. Amato-Neto V, Matsubara L, Lanura PN. Avaliação do sistema quantitativo buffy coat (QBC) no diagnóstico laboratorial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*: estudo em modelo experimental murino. Rev Soc Bras Med Trop. 1996; 29: 59-61.
12. Ferreira CS, Bezerra RC, Pinheiro AA. Technical report methylene blue staining for *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes and epimastigotes. Rev Inst Med trop S Paulo. 2006; 48 (6): 347-49.
13. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância em Saúde. Sistema de Notificação de Agravos de Notificação (SINAN). Doença de Chagas Aguda. Manual prático de subsídio à notificação obrigatória no SINAN. [acesso em: 06 julho 2009]. Disponível em: http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_chagas.pdf.
14. Azogue E, Darras C. Estudio prospectivo de la enfermedad de Chagas em recién nacidos com infección placentária por *Trypanosoma cruzi* (Santa Cruz-Bolivia). Rev Soc Bras Med Trop. 1991; 24: 105-9.
15. Shikanai YMA, Brisola Marcondes C, Guedes LA, Siqueira GS, Barone AA et al. Possible oral transmission of acute Chagas' disease in Brazil. Rev Inst Med Trop S Paulo. 1991; 33:351-357.
16. Fragata Filho A A, Correia E B, Borges Filho R, Vasconcelos MO, Janczuk D, Martins C SS. Sequência de transmissões não habituais da infecção chagásica em uma mesma família: transfusional para a mãe e congênita para o filho, de cepa de *Trypanosoma cruzi* resistente ao tratamento. Rev Soc Bras Med Trop. 2008; 41 (1) : 248-49.
17. Nóbrega AA, Garcia MH, Tatto E, Obara MT, Costa E. Oral transmission of chagas' disease by consumption of açai palm fruit, Brazil. Emerg Infect Dis. 2009; 15 (4): 653-55.
18. Pereira KS, Schmidt FL, Guaraldo AM, Franco RM. Chagas' disease as a foodborn illness. J Food Prot. 2009; 72 (2): 441-46.
19. Luquetti AO, Gonçalves AV, Carneiro LB, Santos JF, Medeiros et al. Tentativa de correlação do xenodiagnóstico com o nível de parasitemia na fase crônica da doença de Chagas. Rev Soc Bras Med Trop. 1994; 27 (2): 93.
20. Brumpt E. Le xénodagnostic. Application au diagnostic de quelques infections parasitaires et en particulier à la Trypanosomose de Chagas. Bull Soc Pat Exot. 1914; 7: 706-10.
21. Cerisola JA, Rohwedder R, Segura EL, Del Prado CE, Alvarez M, Martini GJW. El xenodiagnóstico. Buenos Aires. Imp Inst Nac Invest Cardiovasc. 1974; p.157.

23. Tolezano JE. Possibilidade de padronização de xenodiagnóstico. In: Ferreira AW, Tolezano JE, Wendel S, Okay TS. Controvérsias em Doença de Chagas. Instituto de Medicina Tropical. Centro de Estudos Samuel Pessoa São Paulo: Editora Segmento Farma, 2004. p 17-20.
24. Nunes EV, Campos R, Guilherme CS, Tolezano JE, Moreira AAB et al. O xenodiagnóstico da doença de Chagas: influência do sexo dos triatomíneos. Rev Soc Bras Med Trop. 1991; 24: 245-50.
25. Bronfen E, Alvarenga NJ. O xenodiagnóstico e os critérios para avaliar o nível de parasitemia do paciente chagásico crônico. Rev Bras Med Trop. 1991; 24: 37-42.
26. Borges-Pereira J, Junqueira AC, Santos LC, de-Castro JA, de-Araújo IB, Coura JR. Xenodiagnosis in chronic Chagas disease. I. The sensitivity of *Panstrongylus megistus* and *Triatoma infestans*. Rev Soc Bras Med Trop. 1996; 29: 341-77.
27. Moreira CJC, Perlowagora-Szumlewicz A. Attempts to improve xenodiagnosis: comparative test of sensibility using *Rhodnius neglectus*, *Panstrongylus megistus*, *Triatoma vitticeps* and *Triatoma infestans* in endemic areas of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1997; 92: 91-6.
28. Borges-Pereira J, Willcox HPF, Marcondes CD, Coura JR. Parasitemia em pacientes chagásicos crônicos avaliada pelo índice de triatomíneos infectados no xenodiagnóstico. Rev Soc Bras Med Trop. 1989; 22:39-44.
29. Santos AH, Silva IG, Rassi A. Estudo comparativo entre o xenodiagnóstico natural e o artificial em chagásicos crônicos. Rev Soc Bras Med Trop. 1995; 28: 367-73.
30. Castro CN, Alves TM, Macedo VO. Importância da repetição do xenodiagnóstico para avaliação da parasitemia na fase crônica da doença de Chagas. Rev Soc Bras Med Trop. 1983; 16:98-103.
31. Tolezano JE, Araújo MFL, Ribeiro SS, Ishida MMI. Efeitos do jejum e da temperatura em laboratório na infectividade de triatomíneos por *T cruzi*. Rev Inst Adolfo Lutz. 1983; 43 (1/2): 25-32.
32. Tolezano JE, Chieffi PP, Araújo MFL, Valentim AM, Ribeiro SS. Variáveis relacionadas ao desenvolvimento de *Triatoma infestans* Klug, 1834 em condições de laboratório. I Relação entre repastos sangüíneos e o desenvolvimento. Rev Inst Adolfo Lutz. 1984; 44 (1): 73-9.
33. Schenone H, Mercado AR, Castilho D. Estudio comparativo de la sensibilidad y mortalidade de las ninfas III y IV de *Triatoma infestans* usadas en el xenodiagnóstico de pacientes crónicos. Bol chil parasitol. 2000; 55: 1-2.
34. Costa CHM, Costa MT, Weber JN, Gilks GF, Castro C, Marsden PD. Skin reactions to bug bites as a result of xenodiagnosis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1981; 75: 405-8.
35. Dias JCP. Manifestações cutâneas na prática do xenodiagnóstico. Rev Bras Malariol Doenças Trop. 1968; 20: 247-57.
36. Pineda JP, Luquetti A, Castro C. Comparação entre o xenodiagnóstico clássico e o artificial na fase crônica da doença de Chagas. Rev Soc Bras Med Trop. 1998; 31: 473-80.
37. Castro C, Santos MCA., Silveira CA. Estudo comparativo entre o xenodiagnóstico artificial realizado imediatamente e quatro horas após a coleta de sangue. Rev Soc Bras Med Trop. [cited 2009 July 28]; 37(2):128-130. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822004000200002&lng=en.
38. Campos R, Amato Neto V, Matsubara L, Moreira AAB, Pinto PLS. Estudos sobre xenodiagnóstico "in vitro": I. Escolha de anticoagulante e de membrana. Rev Hosp Clin Fac Med Univ S Paulo. 1988; 43: 101-3.
39. Isac E. Influência da heparina e do citrato de sódio no xenodiagnóstico artificial. Rev Pat Trop. 1994; 23: 121-43.
40. Silva IGS, Azevedo YB, Rassi A, Galvão ACR, Silva APR. Correlação existente entre a quantidade de sangue usada no xenodiagnóstico artificial e sua positividade. Rev Soc Bras Med Trop. 1998; 31(1): 240-1.
41. Tolezano JE, Taniguchi HH, Araújo MFL, Westphalen EVN, Barbosa JAR et al. Dinâmica da circulação de *Leishmania* e *Trypanosoma* no ambiente florestado natural na ilha de São Sebastião (Ilhabela), São Paulo, Brasil. Bol Inst Adolfo Lutz. 2004; 1/2: 22-3.
42. Silva IGS, Luquetti AO, Silva HHG. Importância do método de obtenção das dejeções dos triatomíneos na avaliação da susceptibilidade triatomínica para *Trypanosoma cruzi*. Rev Soc Bras Med Trop. 1993; 26: 19-24.
43. Cerisola JA, Del Prado CE, Rohwedder R, Bozzini JP. *Blatocritidia triatominae* n.sp. found in *Triatoma infestans* from Argentina. J Protozol. 1971; 18: 503-6.

44. Rocha e Silva OE, Germano PDB, Corrêa RR, Andrade JCR. Observações sobre o encontro de tripanossomatídeos do gênero *Blastocrithidia*, infetando naturalmente triatomíneos em insetário e no campo. Rev Saúde Pública. 1977. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101977000100008&lng=en.
45. Chiari E. Parasitological diagnosis. In: S Wendel, Z Brener, ME Camargo, A Rassi editors. Chagas' disease (American trypanosomiasis): Its impact on transfusion and clinical medicine. Editora Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, São Paulo. 153-64.
46. Portela-Lindoso AAB, Shikanai-Yasuda MA. Doença de Chagas crônica: do xenodiagnóstico e hemocultura à reação em cadeia da polimerase. Rev Saúde Pública. 2003; 37 (1): 105-15.
47. Galvão LMC, Cañado JR, Rezende DF, Krettli A. Hemocultures from chronic chagasic patients using EDTA or heparin as anticoagulants. Braz J Med Biol Res. 1989; 22: 841-3.
48. Bronfen E, Rocha FSA, Machado GBN, Perillo MM, Romanha AJ, Chiari E. Isolamento de amostras de *Trypanosoma cruzi* por xenodiagnóstico e hemocultura de pacientes na fase crônica da doença de Chagas. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1989; 84: 237-240.
49. Minter-Goeldbloed E. The primary isolation by haemoculture of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* from animals and man. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1978; 72: 22-30.
50. Bisugo MC, Nunes EV, Araújo MFL, Cunha EA, Oliveira Junior OC, Guilherme CS et al. Isolamento de *Trypanosoma cruzi*, por xenocultura, após aplicação de xenodiagnóstico in vivo e/ou in vitro em pacientes na fase crônica da doença de Chagas e na co-infecção pelo HIV. Rev Inst Adolfo Lutz. 1998; 57: 89-96.
51. Wincker P, Britto C, Pereira JB, Cardoso MA, Oelemann W, Morel CM. Use of simplified polymerase chain reaction procedure to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients in rural endemic areas. Am J Trop Med Hyg. 1994; 51: 771-77.
52. Russomando G, Rojas-de-Arias A, Almiron M, Figueredo A, Fwerreira ME, Morita K. *Trypanosoma cruzi*: polymerase chain reaction-based detection in dried feces of *Triatoma infestans*. Exp Parasitol. 1996; 83: 62-6.
53. Junqueira ACV, Chiari E, Wincker P. Comparison of the polymerase chain reaction with two classical parasitological methods for diagnosis of Chagas' disease patients in a north-eastern endemic region of Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1996; 90:129-132.
54. Okay TS. Posição atual da reação da polimerase em cadeia (PCR) quanto ao diagnóstico e ao controle do tratamento etiológico da doença de Chagas. In: AW Ferreira, JE Tolezano, S Wendel, TS Okay. Controvérsias em Doença de Chagas. Instituto de Medicina Tropical. Centro de Estudos Samuel Pessoa São Paulo: Editora Segmento Farma, 2004. 15-16.

DOENÇA DE CHAGAS: DIAGNÓSTICO DE LABORATÓRIO

Antonio Walter Ferreira clawsmbf@usp.br

Instituto de Medicina Tropical de São Paulo – Universidade de São Paulo

O diagnóstico de laboratório da doença de Chagas é feito por métodos parasitológicos, radiológicos e por testes sorológicos.

Os métodos parasitológicos de diagnóstico podem ser utilizados tanto na fase aguda como na fase crônica da doença.

Na fase aguda são utilizados métodos diretos para pesquisa de tripanossomas na corrente sanguínea e, indiretos como o xenodiagnóstico que apresenta elevada sensibilidade. A pesquisa de tripanossomas pode ser feita por microscopia direta, onde o sangue é examinado entre lâmina e lamínula, durante as primeiras seis semanas da doença. Variáveis do método direto, como a coloração de Giemsa, gota espessa, concentração do sangue ou microhematócrito, aumentam a probabilidade da detecção de baixas parasitemias. Uma variável promissora, o sistema *Quantitative Buffy Coat* (QBCA- METHOD), que está sendo utilizado na pesquisa de plasmódios, tem sido aplicado com sucesso na pesquisa de tripanossomas, principalmente quando o nível de parasitemia é muito baixo. Vários autores referem à importância do método na pesquisa de tripanossomas em recém-nascidos com infecção congênita, em material de medula óssea, em pacientes cardíacos transplantados e em líquido cefalorraquidiano.

O método *Polymerase Chain Reaction* (PCR) é altamente sensível para detecção de DNA do parasita. Para a doença de Chagas poderia representar importante procedimento para os casos com resultados sorológicos duvidosos. Em outras palavras, poderia ser utilizado como *Gold Standard Test* na definição da etiologia chagásica. Vários pesquisadores têm estudado a padronização do método para ser aplicado na seleção de doadores de sangue, em inquéritos epidemiológicos ou para diagnóstico da infecção congênita. O tempo necessário para execução do teste, o alto custo e os falsos resultados positivos obtidos, decorrentes de contaminação ambiental, têm limitado a utilização do método.

Em relação à sensibilidade do PCR, Sturm et al. detectaram 0,1% do genoma de um único parasita, na presença de bilhões de DNA humano, quando utilizaram um fragmento de cinetoplasto de *T. cruzi*. Maior sensibilidade foi obtida por Moser et al., detectando 0,05% de DNA do parasita, utilizando uma sequência repetitiva nuclear de DNA. Experimentalmente em camundongos, o método tem permitido a detecção de 8 a 10 parasitas em 100ml de sangue.

Chiari, em 1999, comparou PCR com hemocultura e lise mediada por complemento na detecção da infecção por *T. cruzi* em indivíduos procedentes de diferentes regiões do Brasil, endêmicas ou não, e que apresentavam testes sorológicos positivos, negativos ou inconclusivos. A técnica foi capaz de detectar um parasita íntegro ou 0,01% de fragmentos de DNA de *T. cruzi* circulando no sangue de indivíduos contaminados. O desempenho da PCR foi avaliado em 126 amostras de sangue de indivíduos provenientes de áreas endêmicas (113) e não endêmicas (13). O método foi positivo em 83,5% dos indivíduos com sorologia positiva, 47,6% dos casos com sorologia negativa e 46,2% dos casos com sorologia inconclusiva. Dos dez indivíduos com PCR positivo e sorologia positiva, oito apresentavam lise mediada por complemento positiva. No grupo controle 100% das amostras foram PCR negativas. Os resultados sugerem que a PCR poderia ser utilizada como critério de cura pós-terapêutica antitripanossomicida e na seleção de doadores em bancos de sangue.

Os testes sorológicos são amplamente utilizados na doença de Chagas para selecionar doadores em bancos de sangue, para acompanhamento da terapêutica antiparasitária, para fins sociais na seleção de trabalhadores, para confirmar ou excluir uma suspeita clínica e para inquéritos soropidemiológicos. O resultado do teste sorológico é de probabilidade e sua positividade ou negatividade é influenciada por fatores inerentes aos testes ou ao hospedeiro, como a prevalência da doença, a sensibilidade e a especificidade dos testes e o estado imunológico do paciente.

Muitos testes têm sido padronizados e aplicados para os diferentes propósitos acima referidos.

É importante lembrarmos que *T. cruzi* apresenta grande complexidade antigênica, o que influencia a resposta imunológica do hospedeiro e tem levado diversos pesquisadores, através da biologia molecular e síntese de peptídeos,

a procurarem antígenos, altamente sensíveis e específicos, que sirvam para a pesquisa de anticorpos, quando fixados a suportes inertes ou para a pesquisa de antígenos circulantes, quando utilizados na produção de anticorpos monoclonais. Stolf, em 1992, definiu como antígeno ideal aquele que deveria estar presente em todas as cepas isoladas de diferentes áreas endêmicas, não estar presente em outros agentes etiológicos de doenças infecciosas e parasitárias, ser altamente imunogênico, estável e facilmente obtido para utilização em testes sorológicos.

A seguir, vamos abordar os testes que estão sendo utilizados atualmente na sorologia da doença de Chagas em diferentes países do mundo.

Hemaglutinação

Teste amplamente utilizado para fins de diagnóstico, triagem e inquéritos soropidemiológicos. Hemácias de mamíferos ou de aves previamente tratadas por aldeídos, como o formol, são sensibilizadas com componentes antigênicos de *T.cruzi*, parcialmente ou totalmente solubilizados. O produto liofilizado ou em suspensão apresenta excelente estabilidade, por longo período de tempo mesmo em condições adversas de armazenagem e temperatura. O teste quantitativo ou qualitativo é feito em placas plásticas, normalmente utilizadas para microtitulação. Hemácias frescas, não tratadas com aldeídos, quando sensibilizadas, apresentam boa sensibilidade na detecção de anticorpos anti *T.cruzi*, porém, apresentam baixa estabilidade, mesmo quando conservadas em baixas temperaturas.

Diferentes extratos antigênicos de *T.cruzi* têm sido utilizados para sensibilizar as hemácias. O extrato antigênico alcalino, obtido por digestão dos parasitas com hidróxido de sódio, e o extrato obtido por sonicação de parasitas com solução tamponada de fosfatos são os que apresentam melhor desempenho na sorologia da doença de Chagas. O tratamento prévio dos soros com 2 mercaptoetanol aumentou a especificidade do teste.

O teste de hemaglutinação foi testado por Neal e Miles, utilizando a cepa Y cultivada em meio de LIT, em eluatos de sangue coletado em papel de filtro, de populações de diferentes países da América Latina. Não foram observadas diferenças regionais na resposta de anticorpos, dando a entender que a somatória de epítomos antigênicos presentes no parasita compensa eventuais variações antigênicas regionais.

O teste de hemaglutinação é recomendado para triagem de doadores de sangue, em pequenos bancos de sangue, por ser prático, de fácil manipulação e de baixo custo. O limiar de reatividade do teste deve ser determinado para cada serviço, principalmente em laboratórios de bancos de sangue que necessitam de testes com máxima sensibilidade. Atualmente, existem no mercado brasileiro “kits” bem padronizados de diferentes procedências, que atendem às exigências estipuladas pelas normas técnicas do Ministério da Saúde, conforme dados publicados após reunião patrocinada pelo Ministério.

Imunofluorescência

O teste de imunofluorescência indireto normalmente é feito com formas epimastigotas de *T.cruzi*, cepa Y, obtidas a partir de cultura em meio de LIT. Tripanosomas formolizados são fixados em lâminas de vidro e incubados com o soro diluído, por 30 minutos, a 37°C. Após lavagens, as lâminas são incubadas com conjugado fluorescente (soro de carneiro ou cabra anti IgG ou anti IgM humanas marcado com isotiocianato de fluoresceína). Após incubação e lavagens, o preparado é analisado por microscopia de fluorescência. O teste de imunofluorescência para pesquisa de anticorpos IgG anti *T.cruzi* tem sido considerado como teste de referência na sorologia da doença de Chagas. A pesquisa de anticorpos IgM anti *T.cruzi* tem valor significativo no diagnóstico da doença aguda.

Diferenças antigênicas são observadas nos diferentes estágios evolutivos de *T.cruzi*. Camargo encontrou títulos de anticorpos mais elevados com formas tripomastigotas do que com formas epimastigotas. Primavera et al. compararam formas epimastigotas com formas amastigotas e tripomastigotas de *T.cruzi*. Concluíram que as formas amastigotas são mais reativas para detecção de anticorpos IgA anti *T. cruzi*, principalmente em pacientes com a forma digestiva da doença. Esse achado foi importante para corroborar as observações feitas por Luquetti et al. que encontraram casos de pacientes chagásicos, confirmados pelo xenodiagnóstico, com falsos resultados negativos na pesquisa de anticorpos IgG anti *T.cruzi*, utilizando formas epimastigotas fixadas em lâminas de microscopia. Por

serem muito reativas, as formas amastigotas podem apresentar falsos resultados positivos, e atenção especial deve ser dada ao limiar de reatividade do teste.

Diferentes fatores podem influenciar o resultado do teste de imunofluorescência. A qualidade da microscopia de fluorescência e dos antígenos, a diluição correta do conjugado e o critério de leitura dos preparados obtidos são os principais fatores envolvidos no teste e devem ser rigorosamente padronizados para obtenção de resultados confiáveis. Para se considerar uma reação positiva é necessário que toda a parede celular do parasita esteja fluorescente. Fluorescência pontilhada ao longo da parede pode significar que os parasitas estejam em processo de deterioração por umidade residual. Fluorescência de corpo indica uma reação inespecífica principalmente relacionada à presença de outras patologias.

Em relação ao limiar de reatividade do teste, na triagem sorológica em bancos de sangue, tem sido recomendado 1:20 e 1:40. Alguns serviços utilizam limiares mais baixos, o que contribui para o aparecimento de falsos resultados positivos. Cuidados adicionais como o acompanhamento clínico dos doadores soro positivos, sem antecedentes chagásicos, têm sido recomendados para definição do verdadeiro quadro clínico do doador e evitar a sua marginalização pela sociedade.

Em laboratórios clínicos normalmente o limiar de reatividade utilizado é 1:40, para a pesquisa de anticorpos IgG anti *T. cruzi*.

Enzimaimunoensaio

Ferreira, em 1975, descreveu a padronização e a utilização do teste de imunoperoxidase no diagnóstico da doença de Chagas, utilizando formas epimastigotas de *T. cruzi*, formolizadas e fixadas em lâminas de microscopia como antígeno e conjugado enzimático (soro de carneiro ou cabra conjugados a peroxidase). Após incubação com soro diluído e conjugado, o complexo é revelado com substrato e doador de hidrogênio. O teste padronizado apresentou a mesma sensibilidade e especificidade observadas para a imunofluorescência. O aspecto prático é que a coloração resultante pode ser visualizada por microscopia óptica comum, o que reduz consideravelmente o custo do teste.

Voller et al. descreveram o teste ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) para o diagnóstico da doença de Chagas. O teste foi padronizado em placas de microtitulação, com componentes antigênicos solúveis de *T. cruzi* previamente adsorvidos. Após incubação com soro e conjugado enzimático, a reação é revelada com substrato e doador de hidrogênio que libera cor no sobrenadante. A intensidade da coloração, proporcional a quantidade de anticorpos presentes na amostra, é avaliada por espectrofotometria.

O teste imunoenzimático padronizado abriu amplas perspectivas na sorologia da doença de Chagas, por ser sensível, específico, com leitura objetiva e passível de automação. A possibilidade de utilizar frações antigênicas definidas, obtidas por processos físicos e químicos, síntese ou biologia molecular, é um objetivo que está sendo investigado por diferentes pesquisadores em diferentes partes do mundo. O exemplo do teste de hemaglutinação existe, no mercado, com reagentes bem padronizados para serem usados, principalmente na triagem de doadores de sangue. Oelemann et al., em 1998, fizeram um estudo para avaliar o desempenho de diferentes reagentes comerciais. Mostraram que dependendo da área onde as amostras de sangue foram coletadas, a especificidade dos reagentes variou de 93,3% a 100%, a sensibilidade de 97,7 a 100% e a precisão de 93,6 a 100%. Nenhum dos reagentes comerciais apresentou índice de 100% para os parâmetros avaliados.

Uma das aplicações do teste imunoenzimático é a possibilidade da utilização de antígenos recombinantes ou peptídeos sintéticos fixados à superfície de placas de microtitulação. Essa possibilidade poderá se tornar uma ferramenta importante no aprimoramento do diagnóstico sorológico da doença de Chagas. Umezawa et al., em 1999, testaram seis antígenos recombinantes no teste imunoenzimático: H49, JL7, JL8, B13, A13 e 1F8, em 541 amostras de soros (304 de pacientes chagásicos e 237 amostras de indivíduos não chagásicos) provenientes de nove países: Argentina, Brasil, Bolívia, Chile, Colômbia, El Salvador, Venezuela, Guatemala e Honduras. A sensibilidade do ensaio variou de 93,4 a 99%, e a especificidade foi de 96%. Nesse estudo usando formas epimastigotas do parasita obteve sensibilidade de 100% e especificidade de 84%. Foi sugerido que a associação de diferentes antígenos recombinantes poderia fornecer índices máximos de sensibilidade e especificidade, fato que precisa ser muito bem estudado.

Western Blotting

Diferentes laboratórios do mundo estão pesquisando um método de laboratório que seja confirmatório da infecção chagásica. Dos diferentes métodos que estão sendo apresentados, o descrito por Umezawa et al., em 1996, parece ser o mais realista no diagnóstico da doença de Chagas. O método denominado TESABLOT é um *Western Blotting* feito a partir de antígenos de secreção e excreção de formas tripomastigotas de *T. cruzi*. Trabalhando com amostras de sangue de pacientes chagásicos, formas congênita, aguda e crônica, e de indivíduos não chagásicos os pesquisadores encontraram 100% de sensibilidade e especificidade. Mostrou que após a corrida eletroforética e transferência para fitas de nitrocelulose, os soros de pacientes crônicos e agudos reconhecem bandas diferentes. Na nossa experiência, o método foi capaz de resolver 80% dos casos considerados inconclusivos pela sorologia convencional.

Conduta referente a resultados inconclusivos de provas sorológicas para diagnóstico da doença de Chagas

A sorologia usada como ferramenta de diagnóstico fornece resultados que devem ser interpretados em associação com dados clínicos e epidemiológicos do paciente. Os resultados dependem da sensibilidade e especificidade do teste empregado e do estado imunológico do paciente. Muitas vezes, testes de elevada sensibilidade fornecem resultados clínicos de pouco valor que, inclusive podem interferir negativamente na conduta do clínico. Para evitar essas interferências e entendendo os resultados sorológicos como de probabilidade, costuma-se utilizar como conduta dois testes geralmente de princípios diferentes para um melhor conhecimento do estado imunológico do paciente frente a um determinado processo patológico. Se de um lado essa é a melhor alternativa, de outro temos que resolver problemas decorrentes de resultados discrepantes que levam a indefinição do diagnóstico sorológico.

Na doença de Chagas “resultados inconclusivos” são frequentes tanto no diagnóstico individual como na triagem de doadores em bancos de sangue. Na triagem de doadores de sangue durante muitos anos foi lei obrigatória no Brasil, para a doença de Chagas, a utilização de dois testes de princípios diferentes para a seleção de bolsas de sangue. Inicialmente os bancos de sangue utilizavam, na rotina, os testes de imunofluorescência indireta e hemaglutinação na triagem sorológica. Para o sorologista ficava claro que essa associação traria resultados discrepantes uma vez que a sensibilidade e a especificidade dos testes eram diferentes. Mais tarde, o teste imunoenzimático ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*), passível de ser automatizado, passou a ser utilizado como principal teste associado a imunofluorescência indireta e/ou a hemaglutinação. Da mesma forma, em qualquer uma das associações propostas, resultados inconclusivos eram obtidos. Para os bancos de sangue, a recusa das bolsas de sangue era obrigatória quando os resultados eram reagentes nos dois testes ou reagente em apenas um teste. O elevado índice de rejeição de bolsas, principalmente quando um dos testes escolhidos era o de imunofluorescência indireta, de leitura subjetiva e de difícil padronização, levou diferentes setores da hemoterapia a reclamarem por mudanças na lei do sangue. Em dezembro de 2003 foi aprovada pelo Ministério da Saúde em uma nova portaria que regulamentou a triagem sorológica do sangue. Para a doença de Chagas foi aprovada a utilização de “um teste sorológico de alta sensibilidade”. A definição do índice mínimo de sensibilidade ficou por conta dos editais publicados pelos bancos de sangue quando da concorrência para a compra do reagente.

Para os laboratórios clínicos a situação permaneceu inalterada, pois a maioria utiliza dois testes na sua rotina, seguindo determinação da Organização Pan Americana da Saúde (OPAS) / Organização Mundial da Saúde (OMS).

Na tentativa de sanar os problemas decorrentes de resultados inconclusivos, pesquisadores de várias partes do mundo procuraram padronizar um teste que fornecesse resultado que expressasse sorologicamente o verdadeiro estado imunológico do indivíduo frente à exposição ao *T. cruzi*.

Vários testes foram apresentados como candidatos a “teste confirmatório” da infecção chagásica, como foi amplamente publicado na literatura. Entre os testes, chama atenção o teste padronizado no Instituto de Medicina

Tropical de São Paulo por Umezawa et al.. O teste denominado TESAblot é um imunoblot com antígenos de secreção e excreção de formas tripomastigotas de *T. cruzi* obtidos no sobrenadante do cultivo celular do parasita. O teste apresentou sensibilidade de 100% em todas as avaliações feitas até o momento, utilizando painéis de soros de diferentes países da América Latina. A especificidade do teste é de 99%, mesmo quando avaliado frente a amostras de soros de pacientes infectados por *Leishmania sp.*

Os índices de sensibilidade e especificidade do TESAcruzi garante ao teste valores preditivos positivo e negativo que o comparam aos testes usados como confirmatórios para comprovação da infecção pelo HIV.

Referências

- Camargo ME. American trypanosomiasis (Chagas' Disease). In: Balows A, Hausler Jr. WJ, Ohashi M, Turano A. Springer-Verlag. Laboratory Diagnosis of infectious Diseases. Principles and Practice. New York. 1988; 744-53.
- Camargo ME, Hoshino S, Siqueira GRV. Hemagglutination with preserved, sensitized cells, a practical test for routine serologic diagnosis of American Trypanosomiasis. Rev Inst Med Trop S Paulo. 1973; 15: 81-85.
- Camargo ME, Amato Neto V. Anti-*Trypanosoma cruzi* IgM antibodies as serological evidence of recent infection. Rev Inst Med Trop S Paulo. 1974; 16: 200-202.
- Chiari E. Diagnostic Tests for Chagas' disease. Parasitological diagnosis. In: Wendel S, Brener Z, Camargo ME, Rasi A. Chagas disease (American Trypanosomiasis): Its impact on transfusion and clinical medicine. ISBT Brazil. 1992; p. 153-164.
- Chiari E. Chagas disease diagnosis using polymerase chain reaction, hemoculture and serologic methods. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999; 94(1): 299-300.
- Ferreira AW. Diagnostic Tests for Chagas' disease. Serological diagnosis. Tests for Chagas disease serodiagnosis: a review. In: Wendel S, Brener Z, Camargo ME, Rasi A. Chagas disease (American Trypanosomiasis): Its impact on transfusion and clinical medicine. ISBT Brazil. 1992; 179-194.
- Ferreira AW, Camargo ME, Nakahara OS. *Trypanosoma cruzi*: Immunoperoxidase antibody test for serologic diagnosis. Experimental Parasitology. 1975; 37: 131-137.
- Ferreira AW, Belem ZR, Moura MEG, Camargo ME. Aspectos da padronização de testes sorológicos para a Doença de Chagas: Um teste imunoenzimático para a triagem de doadores de sangue. Rev Inst Med Trop S Paulo. 1991; 33: 123-128.
- Ferreira AW, Camargo ME, Nakahara OS. Aplicação do teste ELISA ao diagnóstico sorológico da doença de Chagas. I. Estudo comparativo com o teste de imunofluorescência em amostras de sangue colhidas em papel de filtro. Abstracts Congresso Internacional de doença de Chagas, 1979. p.210.
- Hoshino-Shimizu S, Camargo ME, Nagasse TK. A stable polysaccharide-hemagglutination reagent for the diagnosis of acute or recent *Trypanosoma cruzi* infections. Rev Inst Med Trop S Paulo. 1978; 20: 208-212.
- Levy AMA. Padronização e avaliação do teste de imunofluorescência com tripomastigotas fixados *in situ* na detecção de anticorpos indicadores da persistência da infecção em chagásicos crônicos. [tese de mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1991.
- Moser DR, Kirchoff LV, Donelson JE. Detection of *Trypanosoma cruzi* by polymerase chain reaction gene amplification. J Clin Microbiol. 27:17744-1749.
- Neal RA, Miles RA. Indirect haemagglutination test for Chagas' disease, with a simple method for survey work. Rev Inst Med Trop S Paulo. 1970; 12: 325-332.
- Oelemann WMR, Teixeira MGM, Peralta JM. Screening and confirmation in Chagas disease serology – A contribution. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999; 94(1): 307-308.
- Schmuñis GA. Prevention of transfusional *Trypanosoma cruzi* infection in Latin America. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999; 94 (1): 93-101.
- Umezawa ES, Bastos SF, Camargo ME, Yamauchi LM, Santos MR, Gonzalez A, et al. Evaluation of recombinant antigens for Chagas disease serodiagnosis in South and Central America. J Clin Microbiol. 1999; 37: 1554-1560.

Umezawa ES, Nascimento MS, Kesper Jr. N, Coura JR, Borges-Pereira J, Junqueira CV, et al.. Immunoblot assay using excreted-secreted antigens of *Trypanosoma cruzi* in serodiagnosis of congenital, acute, and chronic Chagas disease. J Clin Microbiol. 1996; 34: 2143-2147.

Voller A, Draper C, Bidwell DE, Bartlett A. A micro-plate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for Chagas disease. Lancet. 1975; 1: 426-429.

PANORAMA HISTÓRICO DO DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA (MÉTODOS PARASITOLÓGICOS E IMUNOLÓGICOS)

Aparecida Helena de S. GOMES – Centro de Laboratório Regional de Sorocaba – Núcleo Ciências Biomédicas – Instituto Adolfo Lutz. cidahelena@ial.sp.gov.br

Resumo

O presente estudo faz uma retrospectiva histórica do diagnóstico laboratorial da Leishmaniose Tegumentar Americana. O exame parasitológico direto é realizado a partir de esfregaços de diferentes materiais biológicos como raspados e aspirados de lesão, fixados e corados pelo corante de Giemsa e que, desde 1930 até os dias de hoje, é utilizado e considerado como padrão ouro. Os testes imunológicos como a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e os testes imunoenzimáticos (ELISA), desenvolvidos nas décadas de 60 e 70, apresentam reações cruzadas ou falsos negativos, comprometendo a sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade dos testes frente aos baixos títulos de anticorpos observados no início e evolução da LTA. A intradermorreação de Montenegro, utilizado pela primeira vez por J. Montenegro em 1924, usou extratos de *Leishmania brasiliensis* mortas. O teste traduz a resposta de hipersensibilidade tardia, é de grande valor presuntivo, revelando se houve contato anterior do parasita com o paciente e que envolve um conjunto de fatores que estão relacionados à resposta humoral. O teste de Montenegro é de grande utilidade e praticidade, especialmente em pesquisas epidemiológicas, nos estudos de incidência e prevalência, mas deve ser analisado com cautela devido a sua baixa especificidade. A Reação em Cadeia da Polimerase foi empregada nos anos 80, com resultados inovadores, alta sensibilidade, contudo, em virtude do elevado custo operacional da época, não foi adaptada ao diagnóstico de rotina. Atualmente constitui-se o teste de maior sensibilidade e especificidade, quando comparado aos métodos tradicionais, visto que as técnicas moleculares já estão bem estabelecidas. Apresentam custo benefício viável e ao alcance de muitos laboratórios, permitem além de detectar o DNA do parasito do gênero *Leishmania*, também, identificar a espécie específica envolvida na infecção, contribuindo com estudos epidemiológicos relevantes para compreensão da transmissão, diagnóstico, tratamento e controle da doença.

Palavras-chave. história; leishmaniose tegumentar americana; diagnóstico parasitológico e imunológico.

Introdução

As teorias sobre a origem e difusão das leishmanioses evoluíram principalmente durante as eras bacteriológica e epidemiológica. Na metade do século XV, os primeiros microscópios foram construídos e eram utilizados inicialmente para investigar o mundo dos insetos, possibilitando assim a descoberta de microrganismos e agentes de doenças^{3, 8, 11, 12}.

Essa descoberta refletiu um enorme significado médico-social no mundo todo, passando o homem a crer na existência de agentes etiológicos e não simplesmente no paradigma da existência do miasma, interferência do meio ambiente e a teoria dos germes.

No Brasil, a história parasitologia começa a partir da criação da Sociedade de Medicina e Cirurgia no Rio de Janeiro (1829) e da Escola Tropicalista Baiana com a investigação das doenças tropicais como a filariose, a ancilostomíase e a malária (1866).

Em 1902, com a criação do Instituto de Manguinhos, posteriormente designado Instituto Oswaldo Cruz, novas doenças foram descobertas como a tripanossomíase americana ou doença de Chagas, febre amarela, peste e as leishmanioses cutâneo-mucosas.

Em 1908 na Santa Casa de São Paulo já era realizado o diagnóstico de numerosos casos de leishmaniose tegumentar que, na época, recebia várias denominações como úlcera de Bauru, ferida brava, úlcera do Noroeste e outras. Ainda não se conhecia a etiologia da doença. Foi quando em 30 de março de 1909, Adolfo Lindenberg notificou a descoberta do parasito, identificando o agente causal da úlcera de Bauru.

Métodos Parasitológicos

A partir de 1911 muitos pesquisadores dedicaram seus estudos para o isolamento do parasito em meios de cultivo (*in vitro*) e em diferentes animais como camundongos, cães, cobaias, macacos e outros (*in vivo*), inoculando-os com material contendo *Leishmania* provenientes de úlceras de pacientes. Desta forma a microscopia revelou as formas, uma flagelada, a promastigota observada no tubo digestivo do inseto vetor infectado (*Lutzomyia*, Diptera, Psychodidae) e nos meios de cultura, e a forma amastigota que se encontra nos tecidos (macrófagos) dos animais infectados, inclusive o homem. O exame parasitológico direto é, até hoje, utilizado e continua sendo considerado como o exame *gold standart*^{2, 8}.

A técnica de coleta desses materiais requer prática, seja da escarificação da lesão, de aspirados de gânglios ou biopsias de pele. Estes materiais podem ser distendidos em lâmina, fixados e corados pelo Giemsa ou semeados em meios de cultivo acelulares ou inoculados em animais susceptíveis.

O exame parasitológico direto apresenta especificidade e sensibilidade, entre 60% e 95%, é prático e de baixo custo. Entretanto é imprescindível mencionar que a positividade do método é proporcionalmente inversa ao tempo de lesão, ou seja, quanto mais antiga a lesão os parasitos tornam-se menos abundantes, diminuindo as possibilidades de encontrá-los. Infecções secundárias por bactérias e fungos também podem alterar o aspecto da lesão, prejudicando o encontro e a visualização do parasito. O isolamento da *Leishmania* em meios de cultivo pode ser feito a partir de materiais obtidos na lesão, gânglios e outros tecidos, mas pode ser prejudicado pelos altos índices de contaminação^{8, 14, 15, 16}.

O método parasitológico direto não permite a identificação e caracterização da espécie de *Leishmania* envolvida na infecção, pois morfologicamente elas são semelhantes e é importante mencionar que, em determinadas regiões, existem duas ou mais espécies circulando simultaneamente, que diferem entre si quanto à forma clínica da doença e a resposta terapêutica.

Métodos Imunológicos

A reação intradérmica de Montenegro foi introduzida na prática médica com a finalidade de auxiliar no diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)^{1, 3, 5}. O teste foi utilizado no diagnóstico da LTA pela primeira vez por J. Montenegro em 1924, mas só foram publicados em 1926. Montenegro usou extratos alcalinos de *Leishmania brasiliensis*; mais tarde, verificou-se que os extratos continham partículas do parasito, desta forma, passaram a ser usadas suspensões de *Leishmania* mortas e, mais recentemente, quebradas por meio de ultrassom^{1, 5, 6}. O teste de Montenegro traduz a resposta de hipersensibilidade retardada, de grande valor presuntivo, sendo positivo em torno de 95% dos casos de LTA, porém, pode apresentar-se negativo nos quatro meses após o início da lesão cutânea; assim como na Leishmaniose Visceral, na forma cutânea-difusa da LTA e em pacientes imunodeprimidos^{7, 8, 9}.

O teste de Montenegro é altamente sensível (100%), mas apresenta baixa especificidade (60%). Pacientes podem apresentar sensibilidade à solução salina fenolada, utilizada como solvente e conservante no preparo do antígeno^{9, 13}. Além disso, pacientes que vivem em regiões endêmicas, ou já tiveram a doença e foram tratados, podem apresentar 97% a 100% de positividade^{9, 10}.

De Lima Barros et al. observaram reação cruzada nos casos de infecção e/ou coinfeção por esporotricose, justificando, também, a necessidade da utilização de mais de um método diagnóstico. Portanto, o valor diagnóstico do teste de Montenegro é limitado principalmente em pacientes de região endêmica. Devido a esses fatores de interferência, recomenda-se muita cautela na interpretação dos resultados, visto que é um teste muito solicitado.

Os testes sorológicos como a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e os testes imunoenzimáticos (ELISA) desenvolvidos nas décadas de 60 e 70, apresentam reações cruzadas, comprometendo a sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade dos testes frente aos baixos títulos de anticorpos observados no início e desenvolvimento da LTA^{1, 7, 8}. Entretanto, estudos utilizando variações e combinações antigênicas têm despertado grandes expectativas quando utilizados para comparação de títulos de anticorpos, antes, durante e após o tratamento, auxiliando no controle da resposta terapêutica e cura da doença.

Considerações Finais

Os testes tradicionais não devem ser abolidos, pois compreendem técnicas de fácil execução, baixo custo e que apresentam bons resultados, considerando as diferentes fases da doença.

Tanto o teste de Montenegro quanto ao exame direto, quando positivos, não permitem que seja identificada qual a espécie/específica de *Leishmania* envolvida na infecção, para tanto é necessário que se realize métodos moleculares (PCR e outros) fazendo a extração de DNA da cepa isolada, por meio de cultivo ou do próprio material biológico bruto (fragmentos de pele, aspirados de lesão ou de linfonodo).

A identificação das espécies de *Leishmania* circulantes nas regiões endêmicas pode contribuir com os estudos relacionados à epidemiologia da doença, envolvendo: reservatórios, vetores responsáveis pela transmissão, formas clínicas apresentadas, resposta terapêutica e, principalmente, à possibilidade de produção de antígenos específicos, para melhorar a especificidade e a sensibilidade dos testes imunológicos para o diagnóstico, controle do tratamento da LTA.

Referências Bibliográficas

1. Faber WR et al. Value of diagnostic techniques for cutaneous leishmaniasis. J Am Acad Dermatol. 2003; 49: 70-4.
2. Gontijo CM et al. Epidemiological studies of an outbreak of cutaneous leishmaniasis in the Rio Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil. Acta Trop. 2002; 81: 143-50.
3. Da Costa CA et al. Montenegro skin test-evaluation of the composition and stability of the antigen preparation. Mem Int Oswaldo Cruz. 1996; 91: 193-4.
4. Barros, LMB et al. Positive Montenegro skin test among patients with sporotrichosis in Rio de Janeiro. Acta Trop. 2005; 93: 47-7.
5. Melo MM et al. Padronização de Antígeno de Montenegro. Rev Inst Méd Trop São Paulo, 1977.
6. Altamirano-Enciso AJ et al. Hist Cienc Saúde [ilus, mapas]. set-dez 2003;10(3): 853-882.
7. Nascimento MD et al. Induction and modulation of the immune response to Leishmania by Montenegros's skin test. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1993; 87: 91-3.
8. Rey L. Leishmania e leishmanioses: os parasitos. In: Rey L. Parasitologia: parasitas e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan;1991. 2 ed. p. 182-92.
9. Gomes AHS et al. *Leishmania (V.) braziliensis*: Detection by PCR in biopsies from patients with cutaneous leishmaniasis. Experimental Parasitology. 2007; 119: 4894-5.
10. Silveira TG et al. Observações sobre o diagnóstico laboratorial e a epidemiologia da leishmaniose tegumentar no Estado do Paraná, sul do Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 1999; 32: 413-23.
11. Departamento de Protozoologia/ IOC/FIOCRUZ. Laboratório de imunomodulação. As Leishmanioses. [acesso em: 16 dez 2004]. Disponível em: <http://WWW.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishex/index.htm>.
12. Moreira J. Botão endêmico dos países quentes. O Brasil Médico. 1906; 1: 100-1.
13. São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Bula de instruções que acompanha o frasco de Antígeno de Montenegro – Seção de produção de reagentes. Biologia Médica. Instituto Adolfo Lutz.
14. Nino A, Camacho M. Leishmania (Viannia) braziliensis growth in vitro culture relies more on folic acid availability than Leishmania (Leishmania) amazonensis. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005; 100(3): 309-310.
15. Warburg A, Gelman S, Deutsch J. Xanthine in urine stimulates growth of Leishmania promastigotes in vitro. J Med Microbiol. 2008; 57(Pt 1): 136-8,.
16. Armstrong TC, Patterson JL. Cultivation of Leishmania braziliensis in an economical serum-free medium containing human urine. J Parasitol. 1994; 80(6): 1030-2.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Lucile Maria Floeter-Winter

Instituto de Biociências – Universidade de São Paulo

lucile@ib.usp.br

A informação genética, na maioria dos organismos, está codificada no seu DNA, assim, o DNA de um organismo pode ser sua “marca registrada”. Como todos os organismos são relacionados entre si, algumas sequências de DNA são comuns a todos, mas algumas são únicas desse organismo. Nos últimos anos, testes de identificação baseados nas características do DNA se tornaram um poderoso instrumento na identificação, tanto de indivíduos, como de grupos de organismos, entre esses, patógenos responsáveis por doenças que afligem milhões de pessoas. A busca e utilização de sequências de DNA de organismos do gênero *Leishmania* vêm sendo desenvolvidas de modo a poder detectar e identificar o organismo em hospedeiros, além de determinar o número de células do parasita em tecidos de pacientes ou mesmo em reservatórios silvestres. A descrição de sequências alvos como DNA ribossômico e o gene que codifica a enzima glicose-6-fosfato desidrogenase vem permitindo a distinção de grupos ou mesmo de espécies de *Leishmania*. A padronização de teste baseado em PCR em tempo real permite além da identificação, a quantificação do parasita em tecido do hospedeiro. Os benefícios da aplicação desse teste podem ser amplos, tais como: estabelecimento de correlações entre espécie e prognóstico, indicações para tratamento e, no sentido ecológico e epidemiológico, auxiliar na obtenção de informações que possa servir para o desenho de estratégias de controle das doenças por eles causadas.

DESAFIOS NA PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS PARA DOENÇAS NEGLIGENCIADAS

André Gustavo Tempone

Laboratório de Toxinologia Aplicada, Centro de Parasitologia e Micologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brasil.

atempone@usp.br

Doenças tropicais causadas por protozoários causam grande sofrimento aos países em desenvolvimento. Duas importantes protozooses são a leishmaniose e a tripanossomíase americana que afetam milhões de pessoas em regiões tropicais e subtropicais. Com um arsenal terapêutico extremamente reduzido, o tratamento destas doenças continua deficiente, com uma elevada toxicidade, relatos de resistência e, muitas vezes, descontinuação da produção.

Apesar do constante crescimento do parque industrial farmacêutico no Brasil e no mundo, recursos para a pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novos medicamentos para doenças negligenciadas continuam insipientes. Este fato se deve por estas doenças afetarem grandes populações marginais ao processo econômico globalizado e, assim, não são vistas como mercados potenciais para o setor privado. Os avanços na pesquisa científica geraram um grande conhecimento das bases celulares e moleculares da vida, resultando em sofisticadas estratégias terapêuticas para o tratamento de diversas patologias. Em contraste, apesar da enorme prevalência de doenças infecciosas em países subdesenvolvidos, a P&D de novos agentes terapêuticos não evoluiu da mesma forma. A união dos institutos de pesquisa e universidades governamentais com o setor produtivo para a P&D, nesta área, parece uma realidade distante para as doenças negligenciadas. Esforços na construção de um centro público de P&D, com os recursos financeiros concentrados poderiam ser uma das possíveis alternativas nesta batalha.

THE ROLE OF PHLEBOTOMINE SALIVA ON THE ENHANCEMENT AND CONTROL OF *LEISHMANIA* INFECTION

O papel da saliva de flebotomíneos na exacerbação e controle da infecção por *Leishmania*

Márcia Dalastra Laurenti*, Vânia Lúcia Ribeiro da Matta, Carlos Eduardo Pereira Corbett

¹Laboratório de Patologia de Moléstias Infecciosas (LIM-50) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP), Brasil

Correspondência:

Márcia Dalastra Laurenti

Av. Dr. Arnaldo, 455 – 1º andar – sala 1152

CEP: 01246-903 – Cerqueira César – São Paulo (SP), Brasil

Fone: 55 11 3061-7426

Fax: 55 11 3081-7799

e-mail: mdl Lauren@usp.br

Resumo

A leishmaniose é uma enfermidade infecciosa causada por parasitos do gênero *Leishmania* que são transmitidos por insetos vetores. A infecção no hospedeiro vertebrado se estabelece no momento em que a fêmea do flebotomíneo infectada, ao realizar o repasto sanguíneo, regurgita na pele do mamífero as formas promastigotas metacíclicas do parasito juntamente com parte do conteúdo da glândula salivar do vetor. Tem sido descrito que componentes do conteúdo da saliva do vetor tem propriedades imunomodulatórias facilitando o estabelecimento da infecção no hospedeiro. Por outro lado, outros estudos mostram que a pré-sensibilização do hospedeiro vertebrado com saliva de flebotomíneo leva a proteção da infecção por *Leishmania*. Esta revisão teve como principal objetivo, revisar o papel da saliva na evolução da infecção por *Leishmania*, quer seja na exacerbação ou na proteção.

Palavras-chaves: Leishmaniose, *Leishmania*, Phlebotomíneo, Saliva.

THE ROLE OF PHLEBOTOMINE SALIVA ON THE ENHANCEMENT AND CONTROL OF *Leishmania* INFECTION

Abstract

Leishmaniasis is an infectious infirmity caused by parasites of the genus *Leishmania*, which are transmitted by sand fly vectors. Infection of the vertebrate host is established when an infected female phlebotomine regurgitates the metacyclic promastigotes of the parasite into the mammalian skin during blood feed, together with part of the vector salivary gland contents. It has been reported that components of vector saliva content possess immunomodulatory properties that facilitate the establishment of infection in the host. On the other hand, other studies show that presensitization of the vertebrate host to phlebotomine saliva leads to protect against *Leishmania* infection. The main aim of this report was to review the role of saliva in the evolution of *Leishmania* infection, with regard to exacerbation and protection.

Keywords: Leishmaniasis, *Leishmania*, Phlebotomine, Saliva.

Introduction

Leishmaniasis are a group of noncontagious infectious diseases, with chronic evolution, caused by different species of parasitic protozoans of the genus *Leishmania*. Visceral leishmaniasis principally affects cells of the mononuclear phagocyte system of the bone marrow, lymph nodes, spleen and liver^{1,2}. Cutaneous leishmaniasis is mainly characterized by skin tissue compromise and secondarily, by mucosa tissue lesions, depending on the parasite species and host immunogenetic factors^{3,4}.

Leishmaniasis are amply distributed worldwide, occurring in numerous countries in the Americas and Europe. The disease has also been reported in regions in Africa, in Middle Eastern countries and China. In the Americas, leishmaniasis are widely distributed from southern United States, through Central America to northern Argentina. In the American continent, Brazil represents the largest territorial extension with endemic areas and one of the countries with the highest rates of notification for this infection^{5,6}.

In the Americas, leishmaniasis are considered primary zoonoses of wild mammals, such as rodents, marsupials, edentates and primates, among which different species of *Leishmania* are transmitted by the bite of phlebotomine insect vectors. Humans acquire the infection when they enter in contact with forest areas where the wild enzootic cycle of different parasite species occurs. Thus, the disease assumes an occupational character, occurring in professional categories that expose humans to intimate contact with the forest. Moreover, in regions that undergo expressive environmental changes, domestic animals can exert an important role in the biological cycle of the parasites; as reservoirs that maintains the parasites in the natural environment. In these regions, environmental changes also exert a major influence on the biological behavior of species of phlebotomine vectors, as the most resistant species are capable of adapting to the environmental transformations, establishing new ecological niches for their survival in peridomestic settings⁷.

Leishmaniasis agents are protozoan parasites of different species belonging to the genus *Leishmania*. Currently, approximately 30 *Leishmania* species are known worldwide, of which 22 are considered agents of human leishmaniasis. Species of the genus *Leishmania* are classified into two subgenera according to the evolutionary behavior of the parasite in the digestive tract of the phlebotomine vector: *Viannia*, which develops from the posterior to the anterior midgut; and *Leishmania*, which develops from the middle to the anterior midgut⁷. It should be noted that all the species of the subgenus *Viannia* are autochthones of the Americas, while species of the subgenus *Leishmania* are found in the Americas, Europe and Asia.

Infection of the vertebrate host is established when an infected phlebotomine female regurgitates the metacyclic promastigotes of the parasite into the mammalian skin during blood feeding, together with part of the vector salivary gland contents. At this time, the current understanding is that the majority of the parasites are eliminated by the lysis action of the complement system and by neutrophils and eosinophils present in the host blood that flow to the site of the skin punctured by the vector proboscis⁸. However, promastigote forms that escape the nonspecific host defense mechanisms are phagocytized by skin macrophages, housed within the parasitophorous vacuoles, where they transform into the amastigote forms. After successive binary divisions, the mass of parasites provokes increased intracytoplasmic pressure inside the macrophage, disrupting the host cell and the free amastigotes are phagocytized by other macrophages, establishing the infectious cycle in the host⁷.

The role of saliva on the exacerbation of experimental *leishmania* infections

Not so far, hematophagous vectors were regarded as simple delivery tools of pathogens they carry. However, they all share one important feature: during probing and feeding, they salivate at the injured site facilitating blood sucking, and the establishment of the infecting pathogen by the action of active components found in saliva^{9,10,11,12}.

The first report concerning the effect of vector saliva on *Leishmania* infection dates from 1988, when Titus & Ribeiro¹³ showed a markedly enhancement of the cutaneous lesions and parasite load in mice infected with *L. major* in the presence of salivary gland lysate (SGL) of *Lutzomyia longipalpis* compared to animals inoculated only with parasites. Also, they further observed that infection could be established with only 10 to 100 parasites using SGL in the inoculum¹⁴. Together, these two studies resulted in the establishment of experimental models of *Leishmania* infection under closer conditions to the natural transmission.

Later studies showed that the effect of *Lu. longipalpis* SGL on the evolution of experimental infection was not dependant on the mice lineage used, since both resistant and susceptible mice to *L. major* produced larger lesions in the presence of saliva compounds¹⁵.

Other reports corroborated the effect of *Lu. longipalpis* SGL on the increased severity of infections caused by *L. major*¹⁶, as well as by other species of the parasite. *L. (V.) braziliensis*, which produces spontaneously regressing

lesions even in BALB/c mice that are highly susceptible to other species of *Leishmania*, induced larger and longer-lasting lesions with intense parasitism if co-injected with *Lu. longipalpis* SGL^{17,18,19}. Lesion severity and the number of parasites also increased in infections with *L. amazonensis*^{15,20,21}.

One important issue was still required to be checked: the effect of saliva in the natural vector/parasite combination. Only recently, *Lu. longipalpis* SGL was tested in *L. chagasi* infections. Surprisingly, the addition of SGL in the inoculum did not alter the evolution of infection in dogs, did not lead to early amastigote detection and did not increase the parasite load in the organs compared to control animals²². Similar results were obtained for experimental infection in hamsters²³. In another natural vector/parasite combination, *Lu. whitmani* SGL promoted larger cutaneous lesions in mice infected with *L. braziliensis*²⁴. Nonetheless, *in vitro* experiments showed that pretreatment of human monocytes with *Lu. intermedia* SGL did not change the parasite burden, as determined by the number of monocytes infected by *L. braziliensis* or by the number of amastigotes per infected cell, compared to monocytes not exposed to SGL²⁵. However, it should be highlighted that the exacerbation of cutaneous lesions and increased parasitism have been consistently verified in *L. major* infections in the presence of SGL from *Phlebotomus papatasi*, the natural parasite vector in the Old World^{15,26}.

As a whole, vector saliva is accepted as a crucial element for the establishment of *Leishmania* sp based on evidences that it : a- minimizes host hemostatic processes by vasodilatory and antiplatelet actions^{10,27,28}, b- modulates the host immune response, and c- enhances parasite infectivity. Concerning this issue, Charlab and collaborators^{29,30} verified cytostatic effect of *Lu. longipalpis* SGL on *Leishmania*, indicating a role in the generation of infective parasites .

Regarding both the suppressive and immunogenic modulatory effects, *in vitro* experiments show that mice macrophages pretreated with *Lu. longipalpis* SGL are incapable of presenting antigens, which compromises the activation of specific T lymphocytes, are refractory to IFN- γ activation, and drastically reduce the production of hydrogen peroxide and nitric oxide, the main molecules responsible for lysing the parasite^{14,31,32}.

Similar data have also been observed concerning SGL of Old World vectors, as human mononuclear cells when exposed to *P. papatasi* SGL produce lower levels of IFN- γ and higher levels of IL-6³³. Moreover, SGL of *Phlebotomus duboscqi*, the vector of *L. major* in Kenya, is chemotatic for monocytes and this attraction could represent one of the mechanisms by which the saliva ensures the successful parasitism of macrophages in susceptible hosts³⁴.

The *in vivo* effects of *Lu. longipalpis* or *P. papatasi* SGL on the immune response in experimental infections show a much more complex picture and heterogenous results, which are dependent on the parasite species and the genetic background of the animals used. Resistance of C57BL/6, CBA and C3H mice to *L. major* infection is a result of the production of cytokines associated with Th1, especially IFN- γ and TNF- α , while those associated with Th2, particularly IL-4, determine disease progression in BALB/c mice³⁵.

The presence of *P. papatasi* SGL in the *L. major* inoculum promotes increased levels of IL-4, but not of IL-10 and TNF- α , and a reduction in IFN- γ , IL-12 and nitric oxide synthase production, a profile associated with the enhanced severity of cutaneous lesions induced by saliva^{26,36}. In contrast, *Lu. longipalpis* SGL determines increased IL-10 production in BALB/c when inoculated with *L. major*³⁷.

Spontaneous control of experimental *L. braziliensis* infection is determined by IFN- γ and IL-12 generation and low production of IL-4^{38,39}. *Lu. longipalpis* SGL promotes an increase of two to three-fold more IL-4 levels in BALB/c infected with *L. braziliensis* and lesions which persist for the lifetime of the mice¹⁸.

Infection with *Leishmania amazonensis*, on the other hand, causes progressive cutaneous lesions in most inbred lineages of mice, with no evidence of a polarized Th1/Th2 response as observed in that caused by *L. major*⁴⁰. Among others, IL-10, but not IL-4, has an important role in compromising the host immune response⁴¹. Addition of *Lu. longipalpis* SGL to the inoculum promotes a significant rise in IL-10 levels that is associated with increased parasite infectivity and larger lesions²⁰.

Questions have been raised regarding which saliva components could be related to the effects above mentioned, since a complex network of biologically and pharmacologically active molecules have been detected in the salivary secretion, although investigations are still ongoing to better characterize these compounds (to review see Kamhawi,

2000 and Andrade et al., 2007)^{42,43}. The most studied saliva is that of *Lu. longipalpis* whose principal component is maxadilan (MAX), a potent vasodilator that also modulates cytokines production of human and mice macrophages by up-regulating those associated with Th2, (IL-10, IL-6 and TGF- β) and down-regulating cytokines associated with Th1 (IL-12 and TNF- α) and nitric oxide production^{33,44}. As a consequence, the parasite load of peritoneal macrophages of mice infected with *L. major* is drastically increased in the presence of MAX⁴⁴. *In vivo* experiments show that MAX can also exacerbate infection with *L. major* to the same degree as whole salivary gland^{16,45}; nonetheless, another study reports dissociation between the vasodilator effect of MAX and lesion enhancement in infections caused by *L. major* or *L. braziliensis*⁴⁶.

Maxadilan has not been identified in the saliva of other phlebotomines. However, other components as adenosine and its precursor 5'-AMP are detected in *P. papatasi* saliva²⁸ and both present vasodilatory and antiplatelet-aggregation properties. In addition, they enhance the production of Th2 cytokines (IL-10, IL-6), but down-regulate those of Th1 (IL-2 and IFN- γ) and nitric oxide synthesis^{47,48}. Adenosine and AMP have also been detected in *Lu. Longipalpis*, but their *in vivo* effects on *Leishmania* infection have not been performed yet.

Currently, the mechanisms by which salivary compounds act and which of them are involved in the modulation of host response and on parasite survival remain an unsolved question. Given the complexity of these molecules and their possible interactions, it seems unlikely that full comprehension of these mechanisms will be elucidated soon.

Despite the fact that the parasites are transmitted exclusively by sand flies, the establishment of infection in experimental models via sand fly bites is unusual and the scarce reports in literature have not addressed the host response to infective bites^{49,50}. However, Kamhawi and collaborators⁵¹ recently described a murine model of *L. major* infection transmitted by laboratory-reared *P. papatasi* that made it possible to compare the effects of real sand fly saliva with salivary glands used in all experiments concerning saliva effects. Surprisingly, the infection of C57BL/6 mice transmitted by vector bites always resolved over time, similarly to mice inoculated with parasite alone and in strong contrast to the results obtained when SGL is inoculated together with *L. major*²⁶. In addition, the bites of infected *P. papatasi* did not elicit a potent IL-4 response at the inoculation site observed in studies involving needle inoculation of SGL, which was again more comparable to the inoculation with only parasites²⁶. These data highlight a probable bias when using salivary glands instead of real saliva.

To the best of our knowledge, all experiments concerning vector saliva effects were performed with lab-colonized sand flies, which raised the question of whether SGL from lab-colonized vectors and that from sand flies recently captured in the field could exert different effects on host and parasite survival. Our first study using SDS-PAGE gel electrophoresis indicated diversity in the expression and concentration of proteins between *Lu. longipalpis* SGL from these distinct sources, which prompted us to investigate their effects on *Leishmania* infection. We verified that wild-caught *Lu. longipalpis* SGL induced smaller sized lesions and lower tissue parasitism, less inflammatory cells at the inoculation site and lower production of cytokines associated with a susceptible response, compared to that obtained from laboratory-reared vectors⁵². The results address another probable bias caused by the use of SGL from lab-colonized sand flies instead of wild-caught vector SGL in experiments concerning saliva effects.

The role of saliva in protection from infections by *leishmania*

Recent studies have shown that components of insect vector saliva could be candidates for vaccines against leishmaniases^{53,54,55}. Belkaid and collaborators²⁶ were the first group to demonstrate that preexposure to the saliva could result in protection. In their work, the exacerbation effect of infection by *L. major* in mice in the presence of *P. papatasi* SGL was abolished when the mice were preexposed to vector saliva. In experiments involving the transmission of *L. major* by *P. papatasi* bite, observation determined a significant reduction in pathology in mice previously exposed to uninfected phlebotomine bite and in the transmission of parasites by other phlebotomines⁵¹. The protection conferred by presensitization with vector saliva appears to be associated with the delayed hypersensitivity (DTH) response, since inhabitants from endemic areas exhibit a strong DTH response to vector bites^{42,56}. This diverse and intense dermatological reaction has also been observed in volunteers exposed several times to *Lu. Longipalpis* vector bites⁵⁷.

In mice preexposed to SGL, protection is also associated with reactive antibody generation that neutralizes the enhancing effect of the saliva in *Leishmania* infections²⁶.

Studies in endemic areas suggest that natural exposure to uninfected phlebotomine bite could influence the epidemiology of the disease. In residents from an endemic area for visceral leishmaniasis, the presence of class IgG antibodies against the saliva of *Lu. Longipalpis* was detected⁵⁸. High levels of IgG1, IgG4 and IgE were detected in the sera of volunteers exposed to *Lu. Longipalpis* bites⁵⁷. Simultaneous to the development of humoral immune response to saliva, immunity mediated by cells against *Leishmania* is also observed in residents from endemic areas⁵⁹. Individual response to phlebotomine saliva can vary depending on genetic factors. In this way, individuals that develop positive DTH for *Leishmania* antigens together with anti-saliva IgG antibodies could be protected against visceral leishmaniasis; whereas individuals showing low anti-saliva antibody titers and negative DTH would not be⁴³.

The protective response triggered by components of insect vector saliva appears to be parasite/vector specific, since the exposure of BALB/c mice to bites from Old World vectors *P. papatasi* and *P. sergenti* and New World vector *Lu. longipalpis*, led to the production of specific antibodies against the different saliva sources used. Moreover, challenge with an infection specific to the New World, *L. amazonensis*, led to partial protection of mice preexposed to *Lu. longipalpis* bites and the absence of protection for the other two phlebotomine species used²¹.

A recent study showed that the immunization of hamsters with *Lu. longipalpis* salivary protein conferred protection against the fatal evolution of experimental visceral leishmaniasis, such that the low parasite load was correlated with an increase in the IFN- γ /TGF- β ratio and an increase in iNOS expression in the spleen and liver; thus reinforcing the concept of using phlebotomine saliva components in vaccine strategies²³.

In contrast, immunization of BALB/c mice with *Lu. intermedia* salivary gland sonicate followed by challenge with an inoculum containing *L. braziliensis* promastigotes or *L. braziliensis* with added *Lu. intermedia* salivary gland sonicate, did not lead to protection, rather to a prolonged infection evolution⁶⁰. Immunization with *Lu. longipalpis* followed by the same challenge, showed infection evolution similar to controls, with increase in lesion size up to six weeks postinfection, followed by spontaneous cure around 10 weeks postinfection. Besides vector/parasite specificity in the development of an effective immunity against leishmaniasis, the different proteins that exist in phlebotomine saliva must also be considered, since distinct proteins, such as PpSP15 and PpSP44 from *P. papatasi*, induce different immunological profiles that are correlated with resistance and susceptibility, respectively⁶¹.

Concluding remarks

- Insect vector saliva contains pharmacologically active components that block vertebrate host hemostatic processes, facilitating blood feeding and the establishment of *Leishmania* infection.
- Extracts or lysates of *Lu. longipalpis* salivary gland lead to the exacerbation of infection caused by different *Leishmania* species in different mice strains.
- Insect vector saliva plays a crucial role in establishing infection by helping the generation of infective metacyclic promastigote forms in the vector gut and by modulating the host immune response, compromising the presentation of antigens by macrophages, as well as by down-regulating Th1 and up-regulating Th2 responses.
- Regarding parasite/vector specificity, *P. papatasi* salivary gland extract promotes the exacerbation of infection by *L. major*, whereas *Lu. longipalpis* and *Lu. intermedia* salivary gland extracts do not lead to the exacerbation of infection by *L. (L.) chagasi* and *L. (V.) braziliensis*, respectively.
- *Leishmania* infection in the presence of wild-captured *Lu. longipalpis* salivary gland extract induces smaller sized lesions, less inflammatory response in the skin lesion site and lower levels of cytokines associated with susceptibility compared to infection in the presence of lab-colonized vector salivary gland extract.
- Presensitization of vertebrate host with salivary gland extract or by vector bite protects the host against infection caused by coinoculation of parasites and vector saliva. Such protection is related to delayed hypersensitivity response and appears to be species-specific, although contradictory results can be found in the literature.
- Different proteic fractions of vector saliva used in host presensitization may or may not induce protection.

Taking all together, discrepancies were verified while comparing the available data regarding the effects of vector saliva, which clearly demonstrate the need for further studies to fully understand the high complexity of the vector- parasite- host interactions and the need to carefully investigate the role of saliva in the context of actual transmission in nature.

Acknowledgments

FAPESP (01/00240-4) and LIM50 HC-FMUSP.

References

1. Corbett CEP, Duarte MIS. Histopathological patterns of the liver involvement in visceral leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 1987; 29: 131-136.
2. Corbett CEP, Paes RA, Laurenti MD, Andrade Junior HF, Duarte MI. Histopathology of lymphoid organs in experimental leishmaniasis. *Int J Exp Pathol*. 1992; 73: 417-433.
3. Silveira FT, Lainson R, Corbett CEP. Clinical and immunopathological spectrum of American cutaneous leishmaniasis with special reference to the disease in Amazon Brazil: Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004; 99: 239-251.
4. Silveira FT, Lainson R, Corbett CEP. Further observations on clinical, histopathological and immunological features of borderline disseminated cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005; 100: 525-534.
5. WHO. Control of the Leishmaniasis. Geneva, 1990. 158. (Technical Report Series: 793).
6. Fundação Nacional de Saúde - FUNASA. Manual de Controle da Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasília, 2000. 62.
7. Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographic distribution. In: Peters W, Killick- Kendrick, RD editors. *The leishmaniasis in biology and medicine*. London: Academic Press, 1987. 1:1- 20.
8. Laurenti MD, Corbett CEP, Sotto MN, Sinhorini IL, Goto H. The role of complement in the acute inflammatory process in the skin and in host-parasite interaction in hamsters inoculated with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Int J Exp Pathol*. 1996; 77: 15- 24.
9. Ribeiro JM. Role of saliva in blood-feeding by arthropods. *Ann Rev Entomol*. 1987; 32: 463-478.
10. Ribeiro JM. Vector saliva and its role in parasite transmission. Review. *Exp Parasitol*. 1989; 69: 104–106.
11. Champagne D. The role of salivary vasodilators in bloodfeeding and parasite transmission. *Parasitol. Today*. 1994; 10: 430–433.
12. Ribeiro JM. Blood-feeding arthropods: live syringes or invertebrate pharmacologists? *Infect Agents Dis*. 1995; 4: 143-152.
13. Titus RG, Ribeiro JM. Salivary gland lysates from the sand fly *Lutzomyia longipalpis* enhance *Leishmania* infectivity. *Science*. 1988; 239(4845): 1306-8.
14. Titus RG, Ribeiro JM. The role of vector saliva in transmission of arthropod-borne diseases. *Parasitol. Today*. 1990; 6: 157-160.
15. Theodos CM, Ribeiro JM, Titus RG. Analysis of enhancing effect of sand fly saliva on *Leishmania* infection in mice. *Infect Immun*. 1991; 59: 1592-8.
16. Morris RV, Shoemaker CB, David JR, Lanzaro GC, Titus RG. Sandfly maxadilan exacerbates infection with *Leishmania major* and vaccinating against it protects against *L. major* infection. *J Immunol*. 2001; 167: 5226-30.
17. Samuelson E, Lerner R, Tesh, Titus R. A mouse model of *Leishmania braziliensis braziliensis* infection produced by coinjection with sand fly saliva. *J Exp Med*. 1991; 173: 49–54.
18. Lima HC, Titus RG. Effects of sand fly vector saliva on development of cutaneous lesions and the immune response to *Leishmania braziliensis* in BALB/c mice. *Infect Immun*. 1996; 64: 5442–5445.
19. Donnelly KB, Lima HC Titus RG. Histologic characterization of experimental cutaneous Leishmaniasis in mice infected with *Leishmania braziliensis* in the presence or absence of sand fly vector salivary gland lysate. *J Parasitol*. 1998; 84: 97–103.

20. Norsworthy NB, Sun J, Elnaiem D, Lanzaro G, Soong L. Sand fly saliva enhances *Leishmania amazonensis* infection by modulating interleukin-10 production. *Infect Immun*. 2004; 72: 1240-7.
21. Thiakaki M, Rohousova I, Volfova V, Volf P, Chang KP, Soteriadou K. Sand fly specificity of saliva-mediated protective immunity in *Leishmania amazonensis*-BALB/c mouse model. *Microbes Infect*. 2005; 7: 760-766.
22. Paranhos-Silva M, Oliveira GG, Reis EA, de Menezes RM, Fernandes O, Sherlock I, et al. A follow-up of Beagle dogs intradermally infected with *Leishmania chagasi* in the presence or absence of sand fly saliva. *Vet Parasitol*. 2003; 114: 97-111
23. Gomes R, Teixeira C, Teixeira MJ, Oliveira F, Menezes MJ, Silva C, et al. Immunity to a salivary protein of a sand fly vector protects against the fatal outcome of visceral leishmaniasis in a hamster model. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105: 7845-50.
24. Bezerra HS, Teixeira MJ. Effect of *Lutzomyia whitmani* (Diptera: Psychodidae) salivary gland lysates on *Leishmania (Viannia) braziliensis* infection in BALB/c mice. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001; 96:349-51
25. Menezes MJ, Costa DJ, Clarêncio J, Miranda JC, Barral A, Barral-Netto M, et al. Immunomodulation of human monocytes following exposure to *Lutzomyia intermedia* saliva. *BMC Immunol*. 2008; 9: 12.
26. Belkaid Y, Kamhawi S, Modi G, Valenzuela J, Noben-Trauth N, Rowton E, et al. Development of a natural model of cutaneous Leishmaniasis: Powerful effects of vector saliva and saliva preexposure on the long-term outcome of *Leishmania major* infection in the mouse ear dermis. *J Exp Med*. 1998; 10: 1941-1953.
27. Ribeiro JM, Modi GB, Tesh RB. Salivary apyrase activity of some Old World phlebotomine sand flies. *Insect Biochem*. 1989; 19: 409-412.
28. Ribeiro JM, Katz O, Pannell LK, Waitumbi J, Warburg A. Salivary glands of the sand fly *Phlebotomus papatasi* contain pharmacologically active amounts of adenosine and 5'-AMP. *J Exp Biol*. 1999; 202: 1551-1559.
29. Charlab R, Ribeiro JM. Cytostatic effect of *Lutzomyia longipalpis* salivary gland homogenates on *Leishmania* parasites. *Am J Trop Med Hyg*. 1993; 48: 831-838.
30. Charlab R, Tesh RB, Rowton ED, Ribeiro JM. *Leishmania amazonensis*: sensitivity of different promastigote morphotypes to salivary gland homogenates of the sand fly *Lutzomyia longipalpis*. *Exp Parasitol*. 1995; 80: 167-175.
31. Theodos CM, Titus RG. Salivary gland material from the sand fly *Lutzomyia longipalpis* has an inhibitory effect on macrophage function in vitro. *Parasite Immunol*. 1993; 15: 481-487.
32. Hall LR, Titus RG. Sand fly vector saliva selectively modulates macrophage functions that inhibit killing of *Leishmania major* and nitric oxide production. *J Immunol*. 1995; 155: 3501-3506.
33. Rogers KA, Titus RG. Immunomodulatory effects of Maxadilan and *Phlebotomus papatasi* sand fly salivary gland lysates on human primary in vitro immune responses. *Parasite Immunol*. 2003; 25:127-34.
34. Anjili CO, Mbatia PA, Mwangi RW, Githure JI, Olobo JO, Robert LL, et al. The chemotactic effect of *Phlebotomus duboscqi* (Diptera: Psychodidae) salivary gland lysates to murine monocytes. *Acta Trop*. 1995; 60: 97-100.
35. Locksley RM, Heinzel FP, Holaday BJ, Mutha SS, Reiner SL, Sadick MD. Induction of Th1 and Th2 CD4+ subsets during murine *Leishmania major* infection. *Review. Res Immunol*. 1991; 142: 28-32.
36. Mbow ML, Bleyenbergh JA, Hall LR, Titus RG. *Phlebotomus papatasi* sand fly salivary gland lysate down-regulates a Th1, but up-regulates a Th2, response in mice infected with *Leishmania major*. *J Immunol*. 1998; 161: 5571-7
37. Monteiro MC, Lima HC, Souza AA, Titus RG, Romão PR, Cunha FQ. Effect of *Lutzomyia longipalpis* salivary gland extracts on leukocyte migration induced by *Leishmania major*. *Am J Trop Med Hyg*. 2007; 76: 88-94.
38. DeKrey GK, Lima HC, Titus RG. Analysis of the immune responses of mice to infection with *Leishmania braziliensis*. *Infect Immun*. 1998; 66: 827-829.
39. Rocha FJ, Schleicher U, Mattner J, Alber G, Bogdan C. Cytokines, signaling pathways, and effector molecules required for the control of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in mice. *Infect Immun*. 2007; 75: 3823-32.
40. Ji J, Sun J, Qi H, Soong L. Analysis of T helper cell responses during infection with *Leishmania amazonensis*. *Am J Trop Med Hyg*. 2002; 66: 338-345.
41. Ji J, Sun J, Soong L. Impaired expression of inflammatory cytokines and chemokines at early stages of infection with *Leishmania amazonensis*. *Infect Immun*. 2003; 71: 4278-4288.

42. Kamhawi S. The biological and immunomodulatory properties of sand fly saliva and its role in the establishment of *Leishmania* infections. *Microbes Infect.* 2000; 2:1765-73.
43. Andrade BB, de Oliveira CI, Brodskyn CI, Barral A, Barral-Neto M. Role of sand fly in human and experimental leishmaniasis. Review. *Scan J Immunol.* 2007; 66: 122-127.
44. Brodie TM, Smith MC, Morris RV, Titus RG. Immunomodulatory Effects of the *Lutzomyia longipalpis* Salivary Gland Protein Maxadilan on Mouse Macrophages. *Infect Immun.* 2007; 75: 2359–2365.
45. Titus R, Mbow M. The vasodilator of *Lutzomyia longipalpis* sand fly salivary glands exacerbates infection with *Leishmania major* in mice. *Faseb J.* 1991; (2 Suppl S): A970.
46. Castro-Sousa F, Paranhos-Silva M, Sherlock I, Paixão MS, Pontes de Carvalho LC, dos Santos WL. Dissociation between vasodilation and *Leishmania* infection-enhancing effects of sand fly saliva and maxadilan. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001; 96: 997-999.
47. Zidek Z. Adenosine–cyclic AMP pathways and cytokine expression. *Eur Cytokine Netw.* 1999; 10: 319–328.
48. Katz O, Waitumbi JN, Zer R, Warburg A. Adenosine, AMP, and protein phosphatase activity in sandfly saliva. *Am J Trop Med Hyg.* 2000; 62:145-50.
49. Lainson R, Ward RD, Shaw JJ. Experimental transmission of *Leishmania chagasi*, causative agent of neotropical visceral leishmaniasis, by the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Nature.* 1977; 266(5603): 628-30.
50. Lawyer PG, Githure JI, Anjili CO, Olobo JO, Koech DK, Reid GD. Experimental transmission of *Leishmania major* to vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*) by bites of *Phlebotomus duboscqi* (Diptera: Psychodidae). *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1990; 84: 229-32.
51. Kamhawi S, Belkaid Y, Modi G, Rowton E, Sacks D. Protection against cutaneous leishmaniasis resulting from bites of uninfected sand flies. *Science.* 2000; 290: 1351- 1354.
52. Laurenti MD, Silveira VMS, Secundino NFC, Corbett CEP, Pimenta PFP. Saliva of laboratory-reared *Lutzomyia longipalpis* exacerbates *Leishmania (Leishmania) amazonensis* more potently than saliva of wild-caught *Lutzomyia longipalpis*. *Parasitol Int.* 2009.
53. Valenzuela JG, Belkaid Y, Garfield MK, Mendez S, Kamhawi S, Rowton ED, et al. Toward a defined anti-*Leishmania* vaccine targeting vector antigens: characterization of a protective salivary protein. *J Exp Med.* 2001; 194: 331-342.
54. Requena JM, Iborra S, Carrion J, Alonso C, Soto M. Recent advances in vaccines for leishmaniasis. *Expert Opin Biol Ther.* 2004; 4: 1505-1517.
55. Brodskyn C, de Oliveira CI, Barral A, Barral-Netto M. Vaccines in leishmaniasis: advances in the last five years. *Expert Rev Vaccines.* 2007; 2: 705-717.
56. Theodor, O. A study of the reaction to *Phlebotomus* bites with some remarks on harara. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1935; 29: 273- 284.
57. Vinhas V, Andrade BB, Paes F, Bomura A, Clarêncio J, Miranda JC et al. Human anti-saliva immune response following experimental exposure to the visceral leishmaniasis vector, *Lutzomyia longipalpis*. *Eur J Immunol.* 2007; 37: 3111-3121.
58. Barral A, Honda E, Caldas A, Costa J, Vinhas V, Rowton ED et al. Human immune response to sand fly salivary gland antigens: a useful epidemiological marker? *Am J Trop Med Hyg.* 2000; 62: 740-745.
59. Gomes RB, Brodskyn C, de Oliveira CI, Costa J, Miranda JC et al. Seroconversion against *Lutzomyia longipalpis* saliva concurrent with the development of anti-*Leishmania chagasi* delayed-type hypersensitivity. *J Infec Dis.* 2002; 186:1530-1534.
60. de Moura TR, Oliveira F, Novais FO, Miranda JC, Clarêncio J, Follador I et al. Enhanced *Leishmania braziliensis* infection following pre-exposure to sandfly saliva. *PLOS Neg Trop Dis.* 2007; 1(2 e84): 1-10.
61. Oliveira F, Lawyer PG, Kamhawi S, Valenzuela JG. Immunity to distinct sand fly salivary proteins primes the anti-*Leishmania* immune response towards protection or exacerbation of disease. *PLOS Neg Trop Dis.* 2008; 2(4 e226): 1-9.

RELAÇÃO ENTRE COMPONENTES BIOLÓGICOS DE TRIATOMÍNEOS E SOROS DE PACIENTES CHAGÁSICOS

Antonio Marcos de A. Levy. Instituto Adolfo Lutz. São Paulo

amarcoslevy@ig.com.br

Hemócitos são células que circulam livremente na hemolinfa de invertebrados e desempenham importante papel na defesa contra partículas estranhas, mediante mecanismos de fagocitose, encapsulação e secreção de peptídeos antimicrobianos. Hemócitos também são importantes durante a embriogênese e na remodelação dos órgãos durante a metamorfose, porque são capazes de remover as células apoptóticas mediante a fagocitose.

Ribeiro dos Santos et al. mostraram que hemócitos de triatomíneos interagem com o fragmento Fc de IgG anti-hemácias de carneiro. Gutierrez et al. detectaram a reatividade de soros chagásicos com estruturas do intestino de *T. infestans* não infectados, mediante a reação de imunofluorescência. Para explicar a razão do reconhecimento, levantou-se a hipótese de que *T. cruzi* poderia ter incorporado alguns antígenos do vetor. Nascimento et al. relataram que anticorpos contra glândulas salivares de *T. infestans* estavam presentes em altos níveis em soros de pacientes chagásicos e não chagásicos que viviam em zona endêmica.

As pesquisas de nosso grupo* mostram que hemócitos de triatomíneos compartilham epítomos com tripomastigotas de *T. cruzi*, mas não com epimastigotas. Esta hipótese é sustentada pelas seguintes observações:

- Hemócitos de triatomíneos não infectados reconhecem soros de pacientes chagásicos mediante a reação de imunofluorescência. A reação de Dot-ELISA permitiu evidenciar o mesmo reconhecimento, quando se utilizou saliva de *T. infestans*.
- Este reconhecimento está disperso entre as espécies hematófagas, com grau variado de sensibilidade, o que não ocorre quando se utilizam hemócitos de outros insetos.
- Quando submetidos a *immunoblotting*, utilizando-se como antígenos extratos de hemócitos, soros de pacientes tratados com sucesso apresentam perfil diferente, depois do tratamento, em comparação com o perfil apresentado antes do tratamento. Estes soros foram em ambos os casos absorvidos com tripomastigotas e epimastigotas. Um número considerável de bandas desapareceu nos soros tratados com tripomastigotas, mas não com epimastigotas. Proteínas de 61-70, 41-50, 31-40 e 21-30 kDa foram as envolvidas no processo de absorção. Após a quimioterapia, as bandas de 121-130, 91-100, 81-90 e 61-60 kDa desapareceram nos soros não absorvidos.
- A reação de lise mediada por complemento, quando realizada com hemócitos, apresenta perfil semelhante ao da reação, quando realizada com tripomastigotas livres de anticorpos.
- Camundongos imunizados com extratos de hemócitos e submetidos ao desafio com formas tripomastigotas apresentam menor mortalidade e alta taxa de sobrevivência do que o grupo controle.

A questão que se levanta é se o ciclo biológico de *T. cruzi* estabeleceu-se por causa da existência prévia dessas relações, ou então, o parasita foi geneticamente se adaptando às condições adversas encontradas nos seus hospedeiros para a sua própria sobrevivência.

*Elizabeth Visone Nunes Westphalen (IAL); Ângela Maria Lourenço (IDPC); Helena Hilomi Taniguchi (IAL); Abílio Augusto Fragata (IDPC).

O INÍCIO DESDE O INÍCIO: A MAQUINARIA DE PRÉ-REPLICAÇÃO EM DIFERENTES ORGANISMOS

Patrícia Diogo de Melo GODOY¹, Simone Guedes CALDERANO¹, Maria Carolina ELIAS^{1*}

¹Instituto Butantan. Departamento de Parasitologia. São Paulo. SP. Brasil.

*carol@butantan.gov.br. Av. Vital Brasil, 1500 Butantã-SP/Brasil CEP 05503-900. Tel: (11) 3726 7222 (2158).

Resumo

A replicação do DNA requer precisão e especificidade. Para garantir este controle, a célula utiliza dois elementos genéticos: uma sequência de nucleotídeos, na qual a duplicação do DNA inicia-se, e uma molécula, ou um complexo proteico, capaz de reconhecer esta região do DNA como uma origem de replicação. Em leveduras e em metazoários, a origem de replicação é reconhecida por um complexo de pré-replicação composto por um heterohexâmero ORC, formado por seis proteínas Orc1-Orc6. O complexo ORC recruta as moléculas Cdc6 e Cdt1, que juntas recrutam o complexo MCM, composto por seis subunidades, que apresenta atividade de helicase e é fundamental para replicação do DNA. Em *Archaea*, a origem de replicação é reconhecida por apenas uma proteína homóloga tanto a Orc1 quanto a Cdc6, Orc1/Cdc6, que recruta o complexo MCM. Na maioria dos representantes de *Archaea*, o complexo MCM apresenta-se como um homohexâmero, formado apenas por uma subunidade de MCM. Em *Trypanosoma cruzi*, o complexo de pré-replicação também é composto por uma molécula Orc1/Cdc6. Em seu genoma, no entanto, encontram-se as seis subunidades de MCM. Estes dados demonstram que *T. cruzi* apresenta uma maquinaria de pré-replicação mais complexa que a de *Archaea*, porém mais simples que a dos demais eucariontes.

Palavras-chave: Maquinaria de pré-replicação, ORC, Cdc6, Cdt1, MCM e *Trypanosoma cruzi*.

The beginning from beginning: the pre-replication machinery at different organisms

Abstract

DNA replication requires extreme precision and specificity. To achieve this control, a cell carries two specific genetic elements. A DNA region, where DNA replication starts, and a molecule, or a complex of molecules, that recognizes this DNA region as replication origin. In unicellular eukaryotes, such as yeast, and in metazoans, the replication origin is recognized by a pre-replication complex composed by the heterohexamer ORC (Origin Recognition Complex) that contains six proteins named Orc1-Orc6. Once bound to DNA, ORC recruits Cdc6 and Cdt1 and these molecules together recruit the helicase component named MCM (mini-chromosome maintenance), composed by six different subunits and fundamental for DNA replication. In archaea, the replication origin is recognized by just one protein, which is homologous to Orc1 and Cdc6, named Orc1/Cdc6 and recruits the helicase component. In the most of archaea species the MCM is a homohexamer composed by just one Mcm subunit. In *Trypanosoma cruzi*, the pre-replication complex is also composed by one molecule, Orc1/Cdc6. In its genome, however, there are sequences similar to the six MCM subunits. These data show that *T. cruzi* present a pre-replication machine more complex than archaea, but simplest than the other eukaryotes.

Key-Words: pre-replication machinery, ORC, Cdc6, Cdt1, MCM e *Trypanosoma cruzi*.

Introdução

A replicação do DNA é organizada em múltiplos passos que compreendem os processos de iniciação, alongamento e reparo. O processo de iniciação é caracterizado pela associação de uma série de proteínas ou complexos (maquinaria de pré-replicação) à sequências de DNA denominadas origens de replicação.

As origens de replicação são sequências específicas de DNA, que podem variar em tamanho, em quantidade e em sequência entre os organismos¹. Apesar de muito distintas, as sequências já descritas das origens de replicação apresentam regiões ricas em bases A e T e pequenas sequências invertidas que podem formar estruturas que são reconhecidas pelo complexo de pré-replicação².

Em eucariontes, o complexo de pré-replicação é formado por um complexo ORC, as proteínas Cdc6, Cdt1 e o complexo MCM. Todas as proteínas, com exceção da proteína, Cdt1 são membros da família de proteínas AAA⁺ ATPases³. Esta família de proteínas é assim definida por apresentar, em suas sequências, os motivos Walker A e Walker B (ligação de ATP/GTP) e as regiões sensor I e II, que estão envolvidas na hidrólise de ATP^{4,5}. As atividades de ligação e hidrólise de ATP são fundamentais para regular a seleção das sequências específicas de DNA (origens) e garantir a estabilidade dos complexos durante os eventos que precedem a replicação^{6,7}.

A formação do complexo de pré-replicação se dá com o recrutamento do complexo proteico ORC (*Origin Recognition Complex*), formado em leveduras e metazoários por seis proteínas Orc1-Orc6⁸. Estas proteínas reconhecem as origens de replicação e recrutam a proteína Cdc6 (*Cell division cycle*). O complexo ORC junto com a proteína Cdc6 recrutam a proteína Cdt1 e o complexo MCM (minichromosome maintenance), sendo que este último apresenta atividade de helicase e permanece associado ao DNA durante toda a replicação⁹. Uma vez que estas proteínas estejam agrupadas nas origens, estas se tornam licenciadas, ou seja, prontas para que as outras proteínas que participam da síntese de DNA possam atuar^{10,11}.

As proteínas dos complexos ORC e MCM são muito conservadas e já foram descritas em *Archaeas*, protozoários, leveduras, metazoários e humanos¹⁰. Ortólogos das proteínas Cdc6 e Cdt1 nem sempre foram encontrados, como acontece em *Archaeas*, sugerindo que a participação destas proteínas em alguns organismos é dispensável, ou ainda, que outras proteínas específicas (identificadas ou não) desempenham estas funções em alguns organismos.

Nesta revisão iremos apresentar os componentes da maquinaria de pré-replicação, incluindo os dados obtidos por nosso grupo, para as proteínas da maquinaria de pré-replicação do *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da Doença de Chagas.

ORC (Complexo de Reconhecimento da Origem de Replicação)

O complexo ORC¹² é um heterohexâmero composto pelas subunidades Orc1-Orc6 que age como iniciador das origens de replicação. Nos últimos anos, um considerável progresso tem sido feito na compreensão das proteínas do complexo ORC e suas funções, particularmente na identificação e caracterização de análogos de ORC em muitos organismos.

Como citado, em leveduras e em metazoários, o ORC consiste em seis proteínas: Orc1-6. Em leveduras as proteínas do complexo ORC são apresentadas com as seguintes massas moleculares: Orc1 (120KDa), Orc2 (71 KDa), Orc3 (62KDa), Orc4 (56 KDa), Orc5 (53 KDa) e Orc6(50KDa)¹³. Estas proteínas contêm em sua sequência o domínio AAA⁺ ATPase. As proteínas do complexo ORC apresentam também um outro domínio funcional, *winged helix* (WH). Este domínio está presente em muitos fatores de transcrição e permite a interação da proteína com DNA¹⁴.

As *Archaeas* representam um terceiro domínio da vida e, embora procariotos, são muito distintos das bactérias. A determinação das sequência de muitos genomas destes organismos tem demonstrado que a maquinaria de replicação é mais parecida com a dos eucariontes do que com a maquinaria de bactérias^{15,16}. De fato, estes organismos apresentam alguns dos componentes do complexo de pré-replicação presente em eucariontes¹⁷. Embora *Archaeas* não tenham as seis proteínas do complexo ORC, estas apresentam uma ou mais proteínas cujas sequências são muito similares a Orc1 e Cdc6, e são, por isso, comumente chamadas de Orc1/Cdc6¹⁸⁻²². O papel de Orc1/Cdc6 nestes organismos também parece ser o reconhecimento da origem e a ancoragem do complexo MCM ao DNA. As estruturas tridimensionais de Orc1/Cdc6 de duas espécies de archaeas também mostram um domínio AAA⁺ ATPase e o domínio *winged helix* (WH), que são conservados em Orc1 e Cdc6²³.

Nossos estudos em relação à maquinaria de pré-replicação nos tripanossomas mostraram, por meio de análises do genoma destes parasitas, que estes organismos não contêm sequências que codificam para todas as subunidades do complexo ORC, ou a proteína Cdc6. Ao invés disto, *T. cruzi* parece similar às espécies de *Archaeas*, pois possui um único gene que codifica uma proteína semelhante a Orc1 e Cdc6, que foi anotado como Orc1²⁴ e cuja proteína foi por nós denominada Orc1/Cdc6.

A proteína Orc1/Cdc6 do *Trypanosoma cruzi* apresenta atividade ATPase e, efetivamente, faz parte do complexo de pré-replicação, pois foi capaz de substituir a proteína Cdc6 em mutantes de leveduras. No entanto, a proteína Orc1/Cdc6 de *T. cruzi* não foi capaz de substituir a proteína Orc1 dos mutantes de levedura²⁵. A ausência de complementação de Orc1 por Orc1/Cdc6 pode ser devido ao pequeno tamanho da Orc1/Cdc6 de *T. cruzi* (49KDa) em relação a Orc1 de levedura (120KDa), ou ainda pode ser que a Orc1/Cdc6 de *T. cruzi* não tenha identificado com especificidade a sequência da origem de replicação das leveduras.

Cdc6 (Proteína de Divisão do Ciclo Celular)

A proteína Cdc6 (*Cell division cycle*) foi primeiramente descrita em um *screening* para obtenção de mutantes de *S. Cerevisiae* que alteravam o ciclo celular, daí sua denominação²⁶. Cdc6 é membro da família das AAA⁺ ATPases e é altamente relacionada com as proteínas do complexo ORC, mais especificamente, muito similar em sequência à proteína Orc1²⁷. Cdc6 tem um papel crucial no agrupamento do complexo de pré-replicação, pois, juntas ORC, Cdc6 e Cdt1 recrutam o complexo MCM para as origens de replicação.

Estudos com a proteína Cdc6 mostram que sua função na replicação é dependente da sua capacidade de ligar e hidrolisar ATP²⁸. Mutações nos motivos Walker A ou Walker B de Cdc6 fazem com que haja uma inibição da replicação^{29,30}.

Em leveduras e em metazoários muito conhecimento foi gerado mostrando as interações entre as proteínas do complexo ORC, Cdc6 e MCM, bem como as interações destas proteínas com DNA (10). No caso de *Archaeas* e do *T. cruzi*, onde encontramos somente uma proteína similar a Orc1 e a Cdc6, muitos estudos precisam ser feitos para definir melhor estas interações. Ao que parece, o domínio WH de Orc1/Cdc6 é o responsável pela ligação ao DNA (reconhecimento da origem), que é uma função de ORC e não de Cdc6. Já a presença do domínio AAA⁺ ATPase, de ligação e hidrólise de ATP (motivos Walker A e B), pode estar tanto relacionado à função de Orc1 quanto à de Cdc6, explicando, então, a eficiência da replicação no *T. cruzi*, mesmo na ausência de Cdc6. De fato, em *Archaeas*, como as seqüências das origens já foram determinadas, foi possível demonstrar a interação destas proteínas no reconhecimento das origens^{31,32}.

Uma outra abordagem utilizada no estudo das proteínas do complexo de pré-replicação diz respeito ao controle dos mecanismos que antecedem a replicação, a fim de garantir que a célula só replique o DNA uma vez a cada ciclo celular. Uma vez que ORC, Cdc6, Cdt1 são responsáveis por recrutar o complexo MCM para o DNA, mas não são importantes para a continuidade do processo³³, inibir a expressão ou atividade destas proteínas no final de G1 representa, efetivamente, bloquear a re-replicação do DNA³⁴.

Em leveduras, as subunidades de ORC são ligadas à cromatina durante todo o ciclo celular¹¹, mas Cdc6 é fosforilada por kinases específicas (CDKs) e são degradadas por proteólise na transição G1-S³⁵. Em mamíferos Orc1 é degradada na fase S por poliubiquitinação que é dependente de CDK³⁶. No *T. cruzi*, verificamos que a proteína Orc1/Cdc6 encontra-se no núcleo e interage com DNA em todas as fases do ciclo celular²⁵. Nós especulamos que nestes organismos a restrição da replicação não é devido à localização ou a ausência da interação de Orc1/Cdc6 com o DNA. Assim, a restrição da replicação a fase S do ciclo celular deve ser devido a modificações pós-traducionais em Orc1/Cdc6, ou mudanças na expressão/localização do complexo MCM durante o ciclo celular ou, ainda, a ação de outras proteínas não identificadas.

Cdt1

Como citado, em eucariontes Cdt1 chega à origem de replicação logo após a ligação de Cdc6 ao complexo ORC. Cdt1 juntamente com Cdc6 são responsáveis pelo recrutamento do complexo MCM¹⁰. Diversos estudos têm

mostrado que Cdt1 interage fisicamente com as MCMs em diferentes organismos³⁷⁻⁴⁰, evidenciando assim sua importância no transporte destas proteínas à origem de replicação.

Diversas buscas por sequências já anotadas na base de dados do genoma do *T. cruzi* (<http://www.tigr.org/tdb/e2k1/tca1/>) não foram capazes de identificar a proteína Cdt1 neste organismo nem em *Archaeas*. Nosso grupo também procurou Cdt1 entre as sequências não anotadas de *T. cruzi* utilizando o programa BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). A sequência de nucleotídeos de Cdt1 de *Saccharomyces cerevisiae* (lôcus YJR046W), também denominado TAH11, foi utilizada para busca de sequências similares no genoma de *T. cruzi* e nenhuma sequência para Cdt1 foi encontrada.

MCM (Complexo de manutenção do minicromossomo)

O complexo MCM é composto por seis diferentes subunidades denominadas de Mcm2 a Mcm7 e é o último componente a se estruturar no complexo de pré-replicação durante sua formação¹⁰. Seu recrutamento é dependente da ligação sequencial de Cdc6 e Cdt1⁴¹ e da hidrólise de ATP mediada pelo complexo ORC e Cdc6^{42,43}.

O heterohexamero MCM tem forma de anel e é capaz de envolver o DNA, tanto simples fita quanto dupla fita. Através da sua atividade de helicase, permite a abertura da dupla fita de DNA durante o processo de replicação. Todas as subunidades do complexo MCM apresentam o domínio conservado de AAA⁺ ATPase, cuja função de ligação e hidrólise de ATP é requerida para a atividade de helicase do complexo MCM⁴⁴. As subunidades Mcm2- Mcm7 são muito conservadas entre os eucariontes, estando presente já desde o último ancestral comum (*Last Common Eukaryotic Ancestor* - LCEA)⁴⁵.

Na maioria das *Archaeas* apenas uma subunidade de MCM é encontrada e forma um homohexamero em forma de anel, que é capaz de envolver DNA dupla e simples fita e que apresenta atividade de helicase. Esta subunidade também apresenta o domínio conservado de ATPase que é indispensável durante a abertura da dupla fita de DNA⁴⁶. Neste organismo, que não possui Cdt1, o recrutamento do complexo MCM à origem de replicação parece ocorrer por meio de Orc1/Cdc6⁴⁷. Em *Sulfolobus solfataricus*, que possui três Orc1/Cdc6 denominadas de 1 a 3, foi observado que há interação destas Orc1/Cdc6s com o complexo MCM, porém estas interações apresentaram ações antagônicas. Enquanto Orc1/Cdc6-2 interage com MCM ligando-a ao DNA, as outras duas, Orc1/Cdc6-1 e 3, interagem com MCM retirando-a do DNA. No entanto, o mecanismo que leva Orc1/Cdc6-1 e 3 a garantir a ausência de interação entre MCM-DNA não está elucidado⁴⁸.

No genoma de *T. cruzi* são encontradas 10 sequências para o complexo MCM que não estão identificadas pela numeração de 2 a 7. A fim de identificar as subunidades do complexo MCM de *T. cruzi*, um alinhamento de múltiplas sequências de aminoácidos foi feito utilizando as sequências do complexo MCM de *Saccharomyces cerevisiae* e de *T. cruzi* no programa ClustalW (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw/>). O resultado deste alinhamento está demonstrado na forma de filograma na figura 2, onde é possível notar que *T. cruzi* possui as seis subunidades de MCMs. Estas seqüências também foram submetidas à análises de domínios conservados (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=cdd>) e todas apresentam o domínio conservado de AAA⁺ ATPase.

Como já dito anteriormente *T. cruzi* não apresenta Cdt1, portanto é possível que o recrutamento do complexo MCM à maquinaria de pré-replicação ocorra diretamente via Orc1/Cdc6, assim como em archaea, ou mesmo através de uma proteína *Cdt1 like* ainda não identificada.

Considerações Finais

Os complexos de pré-replicação encontrados em *Archaea*, *T. cruzi*, leveduras e metazoários estão esquematizados na figura 2. É possível que a presença de um maior número de moléculas para desempenhar a mesma função em eucariontes favoreça uma maior rede de controle para a replicação do DNA. Alternativamente, ou concomitantemente, é possível que com um maior número de moléculas, esta maquinaria de pré-replicação possa ter adquirido novas funções em leveduras e metazoários. Estudos futuros devem esclarecer a razão da maquinaria de pré-replicação ganhar complexidade ao longo da evolução.

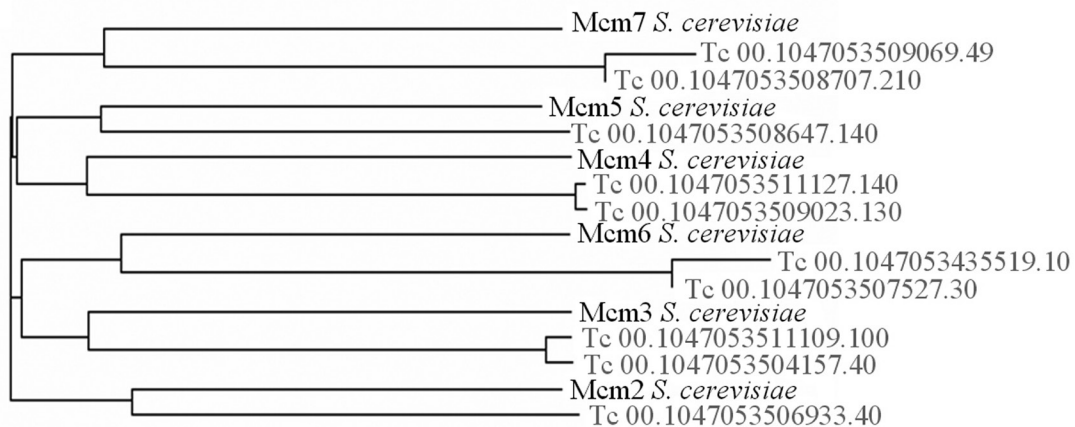


Figura 1: Filograma resultante do alinhamento de múltiplas seqüências de aminoácidos das MCMs de *Saccharomyces cerevisiae* e *Trypanosoma cruzi* no programa Clustal W. Em vermelho estão destacados os lócus das MCMs de *T. cruzi* correspondentes às sequencias de aminoácidos alinhadas.

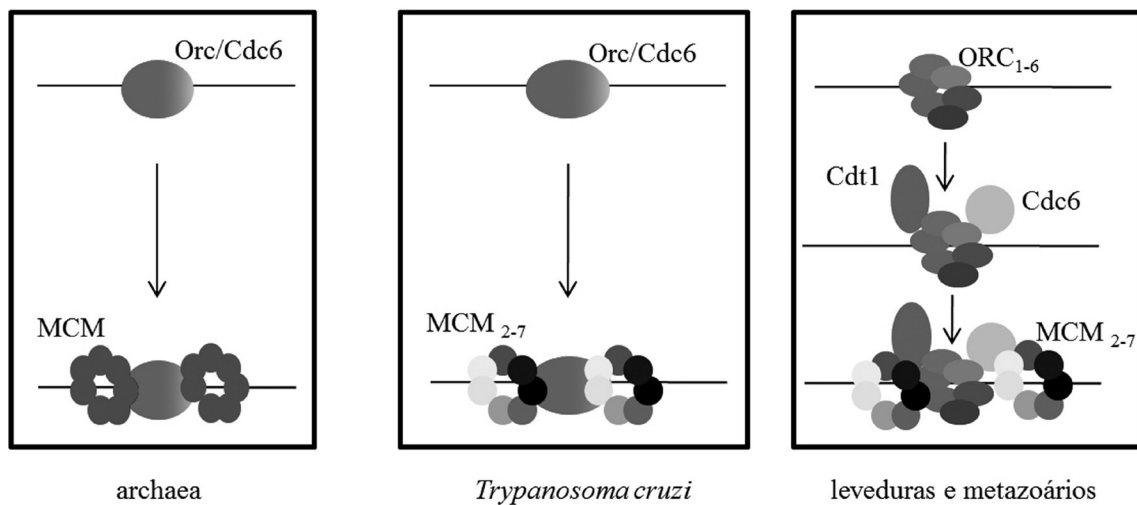


Figura 2: Esquema da maquinaria de pré-replicação nos diferentes domínios

Referências Bibliográficas

1. Boulikas T. Common structural features of replication origins in all life forms. *J Cell Biochem.* 1996;60(3):297-316
2. Grabowski B, Kelman Z. Archeal DNA replication: eukaryal proteins in a bacterial context. *Annu Rev Microbiol.* 2003;57:487-516.
3. Newlon CS. Putting it all together: building a prereplicative complex. *Cell.* 1997;91(6):717-20.
4. Walker JE, Saraste M, Runswick MJ, Gay NJ. Distantly related sequences in the alpha- and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *Embo J.* 1982;1(8):945-51.
5. Guenther B, Onrust R, Sali A, O'Donnell M, Kuriyan J. Crystal structure of the delta' subunit of the clamp-loader complex of *E. coli* DNA polymerase III. *Cell.* 1997;91(3):335-45.

6. Mendez J, Stillman B. Perpetuating the double helix: molecular machines at eukaryotic DNA replication origins. *Bioessays*. 2003;25(12):1158-67.
7. Speck C, Stillman B. Cdc6 ATPase activity regulates ORC x Cdc6 stability and the selection of specific DNA sequences as origins of DNA replication. *J Biol Chem*. 2007;282(16):11705-14.
8. Bell SP, Stillman B. ATP-dependent recognition of eukaryotic origins of DNA replication by a multiprotein complex. *Nature*. 1992;357(6374):128-34.
9. Labib K, Diffley JF. Is the MCM2-7 complex the eukaryotic DNA replication fork helicase? *Curr Opin Genet Dev*. 2001;11(1):64-70.
10. Bell SP, Dutta A. DNA replication in eukaryotic cells. *Annu Rev Biochem*. 2002;71:333-74.
11. Stillman B. Origin recognition and the chromosome cycle. *FEBS Lett*. 2005;579(4):877-84.
12. Bell SP, Stillman B. ATP-dependent recognition of eukaryotic origins of DNA replication by a multiprotein complex. *Nature*. 1992;357(6374):128-34.
13. Chen Z, Speck C, Wendel P, Tang C, Stillman B, Li H. The architecture of the DNA replication origin recognition complex in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(30):10326-31.
14. Speck C, Chen Z, Li H, Stillman B. ATPase-dependent cooperative binding of ORC and Cdc6 to origin DNA. *Nat Struct Mol Biol*. 2005;12(11):965-71.
15. Bernander R. Chromosome replication, nucleoid segregation and cell division in archaea. *Trends Microbiol*. 2000;8(6):278-83.
16. Kelman LM, Kelman Z. Archaea: an archetype for replication initiation studies? *Mol Microbiol*. 2003;48(3):605-15.
17. Myllykallio H, Lopez P, Lopez-Garcia P, Heilig R, Saurin W, Zivanovic Y, et al. Bacterial mode of replication with eukaryotic-like machinery in a hyperthermophilic archaeon. *Science*. 2000;288(5474):2212-5.
18. De FM, Esposito L, Pucci B, De FM, Rossi M, Pisani FM. A CDC6-like factor from the archaea *Sulfolobus solfataricus* promotes binding of the mini-chromosome maintenance complex to DNA. *J Biol Chem*. 2004;279(41):43008-12.
19. De FM, Esposito L, Pucci B, De FM, Manco G, Rossi M, et al. Modular organization of a Cdc6-like protein from the crenarchaeon *Sulfolobus solfataricus*. *Biochem J*. 2004;381(Pt 3):645-53.
20. De FM, Esposito L, Rossi M, Pisani FM. Biochemical characterization of two Cdc6/ORC1-like proteins from the crenarchaeon *Sulfolobus solfataricus*. *Extremophiles*. 2006;10(1):61-70.
21. De FM, Esposito L, Pucci B, Carpentieri F, De FM, Rossi M, et al. Biochemical characterization of a CDC6-like protein from the crenarchaeon *Sulfolobus solfataricus*. *J Biol Chem*. 2003;278(47):46424-31.
22. Pucci B, De FM, Rocco M, Esposito F, De FM, Esposito L, et al. Modular organization of the *Sulfolobus solfataricus* mini-chromosome maintenance protein. *J Biol Chem*. 2007;282(17):12574-82.
23. Singleton MR, Morales R, Grainge I, Cook N, Isupov MN, Wigley DB. Conformational changes induced by nucleotide binding in Cdc6/ORC from *Aeropyrum pernix*. *J Mol Biol*. 2004;343(3):547-57.
24. El-Sayed NM, Myler PJ, Bartholomeu DC, Nilsson D, Aggarwal G, Tran AN, et al. The genome sequence of *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas disease. *Science*. 2005;309(5733):409-15.
25. Godoy PDM, Nogueira-Junior LA, Paes LS, Cornejo A, Martins RM, Silber AM, et al. Trypanosome prereplication machinery contains a single functional *orc1/cdc6* protein, which is typical of archaea. *Eukaryot Cell*. 2009; 8(10): 1592-603.
26. Hartwell LH, Mortimer RK, Culotti J, Culotti M. Genetic Control of the Cell Division Cycle in Yeast: V. Genetic Analysis of *cdc* Mutants. *Genetics*. 1973;74(2):267-86.
27. Coleman TR, Carpenter PB, Dunphy WG. The *Xenopus* Cdc6 protein is essential for the initiation of a single round of DNA replication in cell-free extracts. *Cell*. 1996;87(1):53-63.
28. Herbig U, Marlar CA, Fanning E. The Cdc6 nucleotide-binding site regulates its activity in DNA replication in human cells. *Mol Biol Cell*. 1999;10(8):2631-45.
29. Elsasser S, Chi Y, Yang P, Campbell JL. Phosphorylation controls timing of Cdc6p destruction: A biochemical analysis. *Mol Biol Cell*. 1999;10(10):3263-77.

30. Weinreich M, Liang C, Stillman B. The Cdc6p nucleotide-binding motif is required for loading mcm proteins onto chromatin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(2):441-6.
31. Matsunaga F, Glatigny A, Mucchielli-Giorgi MH, Agier N, Delacroix H, Marisa L, et al. Genomewide and biochemical analyses of DNA-binding activity of Cdc6/Orc1 and Mcm proteins in *Pyrococcus* sp. *Nucleic Acids Res*. 2007;35(10):3214-22.
32. Matsunaga F, Forterre P, Ishino Y, Myllykallio H. In vivo interactions of archaeal Cdc6/Orc1 and minichromosome maintenance proteins with the replication origin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(20):11152-7.
33. Bowers JL, Randell JC, Chen S, Bell SP. ATP hydrolysis by ORC catalyzes reiterative Mcm2-7 assembly at a defined origin of replication. *Mol Cell*. 2004;16(6):967-78.
34. Blow JJ, Dutta A. Preventing re-replication of chromosomal DNA. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005;6(6):476-86.
35. Elsasser S, Chi Y, Yang P, Campbell JL. Phosphorylation controls timing of Cdc6p destruction: A biochemical analysis. *Mol Biol Cell*. 1999;10(10):3263-77.
36. Mendez J, Zou-Yang XH, Kim SY, Hidaka M, Tansey WP, Stillman B. Human origin recognition complex large subunit is degraded by ubiquitin-mediated proteolysis after initiation of DNA replication. *Mol Cell*. 2002;9(3):481-91.
37. Tanaka S, Diffley JF. Interdependent nuclear accumulation of budding yeast Cdt1 and Mcm2-7 during G1 phase. *Nat Cell Biol*. 2002;4(3):198-207.
38. Cook JG, Park CH, Burke TW, Leone G, DeGregori J, Engel A, et al. Analysis of Cdc6 function in the assembly of mammalian prereplication complexes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(3):1347-52.
39. Yanagi K, Mizuno T, You Z, Hanaoka F. Mouse geminin inhibits not only Cdt1-MCM6 interactions but also a novel intrinsic Cdt1 DNA binding activity. *J Biol Chem*. 2002;277(43):40871-80.
40. Ferenbach A, Li A, Brito-Martins M, Blow JJ. Functional domains of the *Xenopus* replication licensing factor Cdt1. *Nucleic Acids Res*. 2005;33(1):316-24.
41. Tsuyama T, Tada S, Watanabe S, Seki M, Enomoto T. Licensing for DNA replication requires a strict sequential assembly of Cdc6 and Cdt1 onto chromatin in *Xenopus* egg extracts. *Nucleic Acids Res*. 2005;33(2):765-75.
42. Bowers JL, Randell JC, Chen S, Bell SP. ATP hydrolysis by ORC catalyzes reiterative Mcm2-7 assembly at a defined origin of replication. *Mol Cell*. 2004;16(6):967-78.
43. Speck C, Chen Z, Li H, Stillman B. ATPase-dependent cooperative binding of ORC and Cdc6 to origin DNA. *Nat Struct Mol Biol*. 2005;12(11):965-71.
44. Maiorano D, Lutzmann M, Mechali M. MCM proteins and DNA replication. *Curr Opin Cell Biol*. 2006;18(2):130-6.
45. Liu Y, Richards TA, Aves SJ. Ancient diversification of eukaryotic MCM DNA replication proteins. *BMC Evol Biol*. 2009;9:60.
46. Barry ER, Bell SD. DNA replication in the archaea. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2006;70(4):876-87.
47. Majernik AI, Jenkinson ER, Chong JP. DNA replication in thermophiles. *Biochem Soc Trans*. 2004;32(Pt 2):236-9.
48. Jiang PX, Wang J, Feng Y, He ZG. Divergent functions of multiple eukaryote-like Orc1/Cdc6 proteins on modulating the loading of the MCM helicase onto the origins of the hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus* P2. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;361(3):651-8.

O PROCESSO MUSEOGRÁFICO DE UM RESGATE HISTÓRICO

Comemorações de Centenários marcantes na Saúde Pública Brasileira

Paracoccidiodomicose – Leishmaniose Tegumentar Americana - “Mal de Chagas”

Silvana Campos da Rocha CALIXTO* e Pedro Antonio FEDERSONI JR*

Pesquisadores Científicos do MusIAL. Museu do Instituto Adolfo Lutz – Núcleo de Acervo – Centro de Informação e Planejamento

pfedersoni@gmail.com

Resumo

Descrição detalhada do processo de musealização de dados históricos de Saúde Pública, sua trajetória museográfica e a conclusão expográfica para a exibição ao público. Três foram os temas das séries de exposições: 1 - “Descrição de *Paracoccidiodioides brasiliensis*, por Dr. Adolpho Lutz, em 1908”; 2 - “Descoberta do agente patogênico do Mal de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, por Dr. Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas, em 1909”; 3 - “Descoberta do agente patogênico da Leishmaniose Tegumentar Americana, *Leishmania brazillensis*, por Dr. Adolpho Carlos Lindenberg, em 1909”. Inúmeras reuniões foram feitas com especialistas em cada uma das áreas das patologias, para se estabelecer os rumos das exposições. A partir delas, estratégias expográficas foram estabelecidas para apresentar os temas a todas as tipologias de público (profissionais da saúde, leigos e pessoas com necessidades especiais de todos os tipos). Exaustiva pesquisa histórica sobre os temas moldou o teor das exposições. Documentos originais, fontes tipográficas, fotos esmaecidas e objetos de época foram adicionados aos estudos para que, na elaboração expográfica, todos os elementos culminassem com a ambientação que formasse uma linguagem não verbal da época das descobertas. Foram expostos, ao todo, quatorze pôsteres, aparelhos e instrumentos científicos. Uma vez que o MusIAL é um Museu que faz parte do Sistema Estadual de Museus de São Paulo, com foco em Museus Acessíveis, para as pessoas que apresentam deficiências, confeccionaram-se inúmeros objetos, em moldes plásticos (réplicas ampliadas de lâminas de microscópio, tecidos, vetores e agentes patogênicos), a fim de serem manuseados.

Palavras-Chave: Museografia, História da Ciência, Saúde Pública, Acessibilidade

Abstract

Detailed description of the historic dates on Public Health musealization; its museographic trajectory and expographic conclusion for public exhibition. The subjects of a three exhibits series were: The Centennial Commemorations of: 1 - “Description of *Paracoccidiodioides brasiliensis*, by Dr. Adolpho Lutz, in 1908”; 2 - “Discovery of the pathogenic agent of Chagas Disease, *Trypanosoma cruzi*, by Dr. Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas, in 1909”; 3 - “Discovery of the pathogenic agent of American Tegumentar Leishmaniosis, *Leishmania brazillensis* by Dr. Adolpho Carlos Lindenberg, in 1909”. Many meetings with experts on each pathologic area had place for the coordination of the exhibition settings. From that, expographic strategies were casted to present the theme to all kind of public (health professionals, laic and handicapped persons of all kinds). Historical researches on the themes were exhaustively done to set the exhibition purposes. Original documents; old times printing types, faded photos and antique objects were added to the studies, with the purpose to elaborate the expography to culminate with a non-verbal language, that could send the visitor to the discoveries epoch atmosphere. Scientific instruments and equipments were exhibited close by fourteen posters at all. Since MusIAL is a part of “Sistema Estadual de Museus de São Paulo”, and its focus is on Accessible Museums, for people that presents some kind of physical or mental deficiency, the MusIAL professionals manufactured many touchable biological objects, casts, plastic molds (biological art replicas from microscope slides; live tissues; disease vectors and pathogenic agents).

Key Words: Museology, History of Science, Public Health, Accessibility

Introdução

A Museologia é ciência que vem se expandindo desde as últimas décadas do século XX. O que até então era feito morosamente, por meio de documentos em base de papel, intercambiados via correio, através de instituições, colecionadores, pesquisadores de áreas específicas, nos últimos anos passou a ser uma alucinante troca de informações em tempo real, através de inúmeros e-mails, telefonemas, informações em *pen drives*, CDs, DVDs, *messenger*, *skype*... O intercâmbio de figuras, os direitos autorais, as permissões e proibições se tornaram ações corriqueiras e, por vezes, facilmente superáveis, sendo que, muito raramente, entra-se, hoje, no campo da justiça editorial e autoral.

Assim, se a troca de informações ficou facilitada e até banal, a concretização da exposição continua a ser o maior entrave para a inauguração e continuidade da mesma. A virtual turbulência causada pela velocidade da troca de informações, em todos os níveis, não foi e não será acompanhada na mesma velocidade pela execução das ações museográficas nos prazos convenientes e nem com as regras expográficas condizentes com a museologia plenamente correta.

Dentre os tipos de mostras possíveis, existem as de curta, média e longa duração. Curta, de três a seis meses; média, de seis a doze meses; e longa, acima de um ano. No caso das exposições aqui descritas, o prazo foi de um ano para cada uma delas, condizendo com o ano do Centenário comemorado, tendo, assim, começo, meio e fim pré-definidos.

O tema a ser contemplado pela exibição, o espaço expositivo disponível e o público alvo determinam o eixo que orienta a expografia. Neste caso, os temas abordados foram específicos de História da Ciência e Saúde Pública e se ativeram à comemoração de Centenários de grandes descobertas e descrições de enfermidades, feitas por pesquisadores brasileiros, verdadeiros luminares da medicina em suas épocas.

A pesquisa de campo no processo museológico em áreas tão específicas como micologia, parasitologia, patologia, imunologia depende muito de reuniões com pesquisadores especialistas nos assuntos a serem tratados. E, num segundo momento, da busca de material gráfico (hemeroteca, artigos científicos publicados, resumos de congressos, desenhos científicos), relatórios de época, documentos históricos (correspondências trocadas entre os pesquisadores, agendas de laboratório, tabelas, gráficos) e, muitas das vezes, da comunicação pessoal.

Até que se estabeleça uma data para dar início à concretização da exibição, um acúmulo de anotações, lembretes, figuras fazem parte do cotidiano das pessoas envolvidas no processo criativo da expografia.

Nos casos aqui descritos, houve participação de pesquisadores do Centro de Parasitologia e Micologia (antigo Serviço de Parasitologia), Núcleo de Parasitoses Sistêmicas (antiga Seção de Parasitoses Sistêmicas (da antiga Divisão de Biologia Médica) e Centro Planejamento e Informação (antigo Serviço Básicos) do Instituto Adolfo Lutz, em sua sede em São Paulo, Capital.

Os temas das três séries de exposições foram:

1. “Descrição de *Paracoccidioides brasiliensis*, por Dr. Adolpho Lutz, em 1908”, inaugurada em 1º de abril de 2008;
2. “Descoberta do agente patogênico do Mal de Chagas , *Trypanosoma cruzi*, por Dr. Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas, em 1909”, inaugurada em 12 de maio de 2009;
3. “Descoberta do agente patogênico da Leishmaniose Tegumentar Americana, *Leishmania brazillensis*, por Dr. Adolpho Carlos Lindenberg, em 1909”, inaugurada em 12 de maio de 2009.

Materiais e Métodos

Nas três exposições foram utilizados pôsteres em base de papel-lona, com impressão colorida, nas dimensões 1m de largura por 1,5m de altura. Cores de fundo e de detalhes, fontes tipográficas, seus tamanhos, molduras para fotos, tonalidades de figuras (esmaecidas ou viradas em sépia), dando impressão de serem antigas foram detalhadas para formar um conjunto condizente com a época das grandes descobertas.

Praticáveis serviram de bases para objetos tridimensionais, que foram acondicionados em caixas envidraçadas de antigas balanças de laboratório, que se prestaram para a apresentação de objetos museais de maior valor, em vitrinas seguras. (Tais balanças deixaram de ser utilizadas em seus laboratórios de origem, por estarem com seus mecanismos comprometidos por avarias e por falta de peças, estas, insubstituíveis).

Foram criados inúmeros objetos representativos de agentes patogênicos e seus ciclos de vida, os vetores e, no caso do Mal de Chagas, dois funcionários confeccionaram uma réplica de “casa de pau-a-pique”, a “cafua”, nas devidas proporções, com inúmeros “barbeiros dessecados” incluídos em suas rachaduras. Alguns animais (marsupiais e mamíferos) taxidermizados foram emprestados pela Seção de Vírus Transmitido por Artrópodes (Atual Núcleo de Doenças de Transmissão Vetorial) e apresentados como exemplos de reservatórios de *Leishmania*.

Um sem número de réplicas biológicas foram produzidas com massa de biscuí, argila e papel machê para fazerem parte do material manuseável, que fica sempre à disposição dos visitantes e fazendo parte do material acessível para portadores de deficiências ou de alguma necessidade especial de aprendizado. Esse material passou a fazer parte do Programa “Dr. Sabidinho”, do MusIAL, para efeito de itinerância do Museu.

Esse método de aproximação com o público visitante tem trazido muitos frutos, uma vez que o Museu passa a ser um local visitável por qualquer pessoa que queira se informar, deixando, assim, de ser um local classificado como “inclusivo” (esta palavra utilizada sem o devido cuidado pode levar o visitante portador de alguma necessidade especial a se sentir “diferente” do grande público e a se sentir observado e avaliado por outros que ali estão. Na realidade “inclusão”, na maior parte das vezes, é considerada como sinônimo de “exclusão”. No MusIAL dá-se preferência a apresentar todos os itens para “qualquer tipo de visitante”, sem exceção ou preferência). Esse método de apresentação tem sido avaliado (Fundação Dorina Nowill para Cegos, Museus Acessíveis, RINAM – Rede de Informação de Acessibilidade em Museus) e, depois, incentivado pelas entidades especializadas no atendimento a essa comunidade de pessoas com deficiências, que utilizam a exibição do MusIAL (APAE, PEPA...).

Discussão

O final do século XIX e início do século XX foram excepcionalmente produtivos para a História das Ciências Médicas em todos os continentes interligados pelas pesquisas de ponta e por seus luminares. A Europa foi o criadouro das maiores mentes exploradoras em todas as áreas do conhecimento humano.

O Brasil teve a ventura de importar várias dessas mentes brilhantes para fazer parte de suas Universidades e Institutos de investigação básica e aplicada nas áreas biológicas, com ênfase sobre a Medicina e a Saúde Pública. Somente esse fato já foi extremamente importante para a formação de inúmeros investigadores brasileiros que, depois, se projetaram nas suas especialidades. Seria injusto citar alguns deles em detrimento de outros. Porém, neste relato, pelo seu teor, fixaremos os nomes de três vultos dessa História: Adolpho Lutz, Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas e Adolpho Carlos Lindenberg.

Biografias entrelaçadas pela História



Adolpho Lutz

Adolfo Lutz nasceu no Rio de Janeiro, RJ, em 18 de dezembro de 1855. Cedo, ainda criança, foi para a Suíça, de onde seus pais eram originários. Fez os cursos secundário e superior em Berna, na Suíça, e formou-se em Medicina em 1879. Complementou sua formação frequentando laboratórios e Universidades de Viena, Leipzig, Praga, Paris, Londres e Hamburgo.

Em 1885, inicia seus estudos em Helmintologia e envia trabalhos para a Alemanha, sobre Nematoides do porco e do homem. Para Leipzig, envia trabalho para Revista de Veterinária, sobre parasitas intestinais dos suínos.

Por seis anos exerceu a Clínica na cidade de Limeira, em São Paulo. Seguiu para Hamburgo, para trabalhar com Unna, destacado dermatologista. Regressando ao Brasil, foi convidado pelo governo inglês a dirigir o Hospital

Kalihi, na Ilha de Molucaí, no Havaí, Estados Unidos (1891 a 1892), para investigar o problema da lepra. Ali, iniciou estudos sobre moluscos que, anos mais tarde, lhe deram base para investigações sobre Schistosomose.

Em 1892, estava clinicando na Califórnia, Estados Unidos da América, mas, no ano seguinte, já estava à frente do Instituto Bacteriológico de São Paulo, primeiro no gênero na América do Sul.

Coube-lhe o estudo e identificação dos surtos de cólera e de peste, bem como estabelecer a natureza tifóidica das “Febres Paulistas”.

Em 1902, Adolpho Lutz se liga a grandes nomes da medicina brasileira, como: Emílio Ribas, Pereira Barreto, Silva Rodrigues e Adriano de Barros, com os quais participa, juntamente com outros pacientes, de experimento deixando-se picar por mosquitos provenientes de áreas infectadas por febre amarela. O mal foi transmitido a três pessoas e, pela primeira vez, confirmaram-se as experiências norte-americanas de Havana.

Com Splendore, em 1907, estudou esporotricose. E, pouco depois, em 1908, assinalava, em São Paulo, os dois primeiros casos de uma doença de etiologia micótica, a chamada Blastomicose sulamericana e que, hoje, muito justamente, recebe o nome de “Doença de Lutz”.

Dirigiu o Instituto Bacteriológico até 1908. Ali, orientou todo o rumo que a Higiene Paulista tomou.

A convite de Osvaldo Cruz, assumiu em 1908 a direção de um setor do Instituto Sorumtherápico Federal (Manguinhos), depois chamado Instituto Osvaldo Cruz, e permaneceu nesse cargo até a morte. No Instituto Osvaldo Cruz empreendeu pesquisas sobre entomologia médica, helmintologia e zoologia aplicadas à medicina tropical. Para estudar a malária e outras doenças infecciosas, fez expedições às florestas serranas do Estado de São Paulo, ao rio São Francisco e ao Nordeste.

Antes que a morte o levasse, em 6 de outubro de 1940, próximo dos 85 anos de idade, Lutz publicou duas centenas de trabalhos científicos nas mais diversas áreas da Biologia, História Natural, Medicina e Veterinária. Dedicou-se profundamente ao estudo da micologia, entomologia médica, protozoologia e flora brasileira.

Ainda em 1940, com sua morte e em sua homenagem o Instituto Bacteriológico passou a chamar-se Instituto Adolfo Lutz.

Roteiro do estudo e descrição da Paracoccidiodomicose

Em 1908, Dr. Adolpho Lutz relatou dois casos, em pacientes da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. Isolou o agente causal (um fungo). Descobriu a existência de duas formas do mesmo (micélio e levedura), que dependem de temperatura ideal para passar de uma forma para outra. Publicou suas observações no “Brazil Médico”, revista editada no Rio de Janeiro, afirmando ter conseguido o cultivo do parasito “semelhante à pele de um ratinho branco” e considerou-o diferente do *Coccidioides immitis*, anteriormente descrito, em 1892, na Argentina, por Posadas e Wernicke. Finalmente, reproduziu a doença em cobaias.

Paracoccidiodomicose (PCM), Blastomicose Sul-americana, ou “Moléstia de Lutz + Splendore + Almeida” e popularmente “Micose do Capim”, é a principal micose sistêmica de caráter endêmico da América Latina.

De 1909 a 1912, Dr. Alfonso Splendore, microbiologista e patologista, estudou a Paracoccidiodomicose, sob o ponto de vista clínico e experimental e publicou, na Itália, monografia citando quatro novas observações, acompanhadas de exames histopatológico e micológico.

De 1927 a 1930, Drs. Floriano Paulo de Almeida e E. Souza Campos estudaram o agente etiológico mostrando que este era diferente do *Coccidioides*, com o qual vinha sendo confundido.

Em 1930, Almeida criou novo Gênero dentro do Reino Fungi – Paracoccidioides, revalidando o nome da espécie criada por Splendore (*Zymonema brasiliense*), passando a *Paracoccidioides brasiliensis*.

Em 1936, Ciferri e Redaelli colocaram o Gênero na Família **Paracoccidioidaceae**, afastando-o mais ainda do Gênero *Coccidioides*.

Em 1940, Simões Barbosa rejeitou a denominação como inválida e ilegítima.

Em 1941/42, Conant e Howell Jr. propuseram o Gênero *Blastomyces* com duas espécies: *B. dermatitides* e *B. brasiliensis*.

Em 1946, Almeida demonstrou que era mais lógico considerar o Gênero *Paracoccidioides* com as duas espécies: *P. dermatitides* e *P. Brasiliensis*.

Finalmente, em 1971, Após reunião de micólogos das Américas, em Medelin, Colômbia, a Paracoccidioidomicose ficou consagrada como nome da doença.



Dr. Adolpho Carlos Lindenberg

Em 20 de abril de 1907, a administração da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo indica o Dr. Adolpho Carlos Lindenberg para a Chefia do Ambulatório de Moléstias da Pelle e de Syphilis. A partir desse fato se dá a criação do Serviço de Dermatologia paulista.

Lindenberg, nascido em Cabo Frio, Rio de Janeiro, em 12 de setembro de 1872, se formou médico, em 1896, pela Faculdade do Rio de Janeiro. Tornou-se um médico incansável e vocacionado para a pesquisa científica. Já havia trabalhado para o Serviço Público Federal no combate à peste bubônica e também com o Diretor do Instituto Bacteriológico, Adolpho Lutz e Vital Brazil Mineiro da Campanha. Não satisfeito com sua formação, economizou seus poucos salários e conseguiu ir para Europa. Estagiou em Berlim, Viena e Paris, com figuras que eram destaque na dermatologia mundial, como os professores Edmund Lesser, Gustave Riehl, Josef Jadassohn, Louis Brocq e Raymond

Sabouraud. Essa complementação à sua formação lhe conferiu prestígio clínico e científico.

Tendo retornado ao Brasil, em 1906, fixou residência em São Paulo. Sua visível inclinação para a liderança o levou a ser admitido na Santa Casa de Misericórdia. Pouco depois, de sua indicação para a Chefia, em 3 de maio de 1907, Lindenberg deu o início ao funcionamento do Ambulatório de Moléstias da Pele e da Sífilis.

Naquela época, a instituição já tinha serviços de cirurgia, clínica médica, pediatria e obstetrícia.

De início não havia uma enfermaria de Dermatologia. Foi quando o doutor Ribeiro de Almeida, responsável pelo “2º Medicina de Mulheres”, permitiu, a partir de 1909, que metade de seus leitos fossem destinados à internação de pacientes com problemas dermatológicos, as quais recebiam atenção de Lindenberg e seus assistentes. A criação do “4º Medicina de Homens” veio depois, em 1914, e sua chefia foi entregue ao pioneiro, que criou, também, um Laboratório Experimental anexo ao departamento.

Muito bem equipado, contribuiu para o avanço dos conhecimentos, sobretudo em relação aos termos da medicina tropical, época de expressivo crescimento, entre outras, da leishmaniose tegumentar americana e da paracoccidioidomicose. Na segunda e terceira décadas do século XX, em atendimento e pesquisa, os primeiros colaboradores de Lindenberg foram José Ataliba Ferraz Sampaio, Abílio Álvaro Martins de Castro e José Moacyr de Alcântara Madeira.

O ano de 1909 foi marcado por dois importantes acontecimentos, ambos protagonizados por Adolpho Carlos Lindenberg: a identificação, em pacientes com “Úlceras de Bauru”, do agente de Leishmaniose Tegumentar Americana que, posteriormente, foi denominada *Leishmania brasiliensis* e a individualização, no Brasil, do principal agente do Actinomicetoma exógeno: *Discomyces brasiliensis*, hoje, denominado *Nocardia brasiliensis*.

Lindenberg contribuiu para o estudo do tratamento da hanseníase e, nos últimos anos de sua vida, procurando um agente etiológico viral, induziu a formação de bolhas, em animais de laboratório, com o soro de pacientes com Pênfigo Foliáceo Endêmico.

Também foi na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo que Adolpho Lutz (1855-1940) deu início à história da Paracoccidioidomicose quando, em 1908, relatou os dois primeiros casos aí internados.

Histórico da evolução da descrição da enfermidade no mundo e trajetória da descoberta do agente Histórico no mundo

Através de estudos de Paleomedicina, foram descobertas múmias com lesões de pele e mucosas características da leishmaniose.

No século I d.C., aparecem os primeiros relatos e descrições das lesões encontrados na literatura .

De 400 a 900 anos d.C., nas Américas, foram encontradas cerâmicas pré-colombianas feitas pelos índios do Peru. Tais representações apresentam mutilações de lábios e narizes, características da espúdia, hoje conhecida como leishmaniose cutâneo-mucosa.

Em 1885, o primeiro a observar o parasita do gênero *Leishmania* foi Cunningham, na Índia, em casos de leishmaniose visceral.

Em 1895, na Itália, Breda descreveu a moléstia em italianos provenientes de São Paulo.

Em 1903, Wright descreve a *Leishmania tropica*, a Leishmaniose do Velho Mundo.

Histórico no Brasil

Em 1827, a primeira referência de LTA no Brasil encontra-se no documento da Pastoral Religiosa Político-Geográfica de 1827, citado no livro de Tello intitulado “Antigüedad de la Syphilis en el Peru”, onde ele relata a viagem de Frei Dom Hipólito Sanches de Fayas y Quiros, de Tabatinga (AM) até o Peru, percorrendo as regiões do vale amazônico.

Em 1855, Cerqueira observa a existência de moléstia da pele, identificando-a clinicamente como botão de Biskra.

Em 1895, na Itália, Breda descreveu a moléstia em italianos provenientes de São Paulo.

Em 1909, no Brasil, a natureza leishmaniótica das lesões cutâneas e nasofaríngeas só foi confirmada, pela primeira vez, por Lindenberg que encontrou formas de *Leishmania*, idênticas à *Leishmania tropica* (Wright, 1903), da Leishmaniose do Velho Mundo, em lesões cutâneas de indivíduos que trabalhavam nas matas do interior do Estado de São Paulo.

Três eventos ocorrem em 1911: Splendore diagnosticou forma mucosa da doença; Gaspar Vianna, por considerar o parasito diferente da *L. tropica*, o batizou de *Leishmania braziliensis*, ficando assim denominado o agente etiológico da “Úlcera de Bauru”, “Ferida Brava” ou “Nariz de Tapir”; Carini confirma as ideias de Vianna.

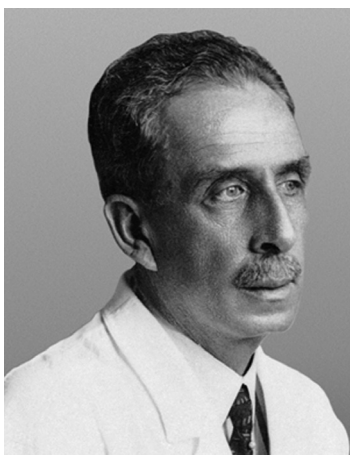
Em 1922, Aragão demonstrou, pela primeira vez, o papel do flebotomíneo na transmissão da LTA.

Nos anos de 1939 e 40, Pessôa descreve a LTA como doença profissional da margem de mata.

Em 1958, Forattini encontrou roedores silvestres parasitados em áreas florestais do Estado de São Paulo.

Até a década de 1970, os casos de LTA eram atribuídos a *L. braziliensis*. Com o aprimoramento das técnicas de análise e a intensificação dos estudos ecológicos e epidemiológicos, outras espécies foram descritas, sendo registradas, até o momento, seis espécies causadoras da LTA.

Em 1993, a Organização Mundial de Saúde, considera as Leishmanioses como a 2ª doença causada por protozoários de importância em Saúde Pública.



Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas

Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas, nasceu na cidade de Oliveira, oeste de Minas Gerais, em 9 de julho de 1879. No ano de 1897, ingressou na Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro.

Concluído o curso, em 1903, escolheu como tema de sua tese o “Estudo Hematológico do Paludismo”. Foi seu primeiro contato com Oswaldo Cruz, de quem recusou convite para permanecer em Manguinhos, por se sentir atraído pela clínica.

Em 1905, realizou a primeira Campanha de Profilaxia Contra a Malária, em Itatinga, no interior de São Paulo.

Em 1906, ingressou nos quadros do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), onde trabalharia durante toda a vida.

Em 1907, foi enviado por Oswaldo Cruz, junto com Arthur Neiva, para combater uma epidemia de malária em Xerém, na Baixada Fluminense.

Em fins de 1907, encarregado por Oswaldo Cruz, viajou, com Belisário Penna para Lassance, arraial às margens do Rio São Francisco. Ali, a malária devastava o acampamento dos trabalhadores da E. F. Central do Brasil. Nesse lugar, instalou sua casa e seu laboratório.

Entre 1907 a 1909, no povoado, observou insetos hematófagos, barbeiros, alojados nas paredes de pau-a-pique das moradias e decidiu examiná-los. Encontrou neles um novo parasito, que chamou de *Trypanosoma cruzi* em homenagem a Oswaldo Cruz. Verificou que o parasito era patogênico para animais de laboratório e descobriu sua presença em animais domésticos. Paralelamente, Chagas, já havia detectado nos habitantes da região alterações patológicas inexplicáveis. Começou então a pesquisar as ligações entre o novo parasito e a condição mórbida daquela população.

Corria o ano de 1908, quando o Engenheiro Chefe Cornélio Homem Cantarino Mota pediu ao Diretor da Central do Brasil, que providenciasse a ida de um especialista para a região norte de MG, entre Silva Xavier e Pirapora, na Bacia do São Francisco.

Oswaldo Cruz designou Carlos Chagas assistente do Instituto de Manguinhos e o enviou a Lassance, Norte de Minas, para dirigir o combate à doença que estava impedindo a construção da Estrada de Ferro. Carlos Chagas foi para o local em 1908, acompanhado de Dr. Belizário Pena e do Dr. Bahia da Rocha. Instalou a sede do seu serviço de profilaxia e tratamento da malária num vagão da estrada de ferro. Era esse o seu laboratório.

Na noite dessa primeira visita aconteceu algo muito marcante: uma longa conversa entre os doutores Cantarino, Chagas, Belizário e Bahia. O registro do que foi conversado se pode encontrar na entrevista que Cantarino concedeu ao repórter Luiz de Medeiros, publicada em maio de 1955 no suplemento intergráfico dominical da “Singra”, do “O Estado do Paraná”.

O engenheiro, que fora para lá em 1902, sugeriu a Chagas que procedesse um estudo cuidadoso do “barbeiro”, um inseto que talvez fosse causador de muitas moléstias. Contou, também, que o inseto vivia nas frestas das choupanas de pau-a-pique, feitas de pau trançado e barreado, que chupava sangue de gente e de animais. Para ele, “papo” e “idiotia do capiau” poderiam ter alguma relação com o “barbeiro”. Baseou sua opinião no fato de haver muito “papo” em casas “embarbeiradas”. Sabia que, numa só família, constituída de 11 pessoas, pai, mãe e todos os filhos eram “papudos”, que os filhos não nasciam “papudos” e se tornavam papudos depois.

Dr. Cantarino disse ao repórter de “Singra” que fez, naquela palestra realizada, havia mais de 50 anos, no acampamento à margem do Buriti Pequeno, a apresentação oficial do “barbeiro” a Chagas.

Chagas examinou os barbeiros e encontrou em seus intestinos formas flageladas de um protozoário, com características que o fizeram pensar que poderia tratar-se de um parasito natural do inseto de uma fase evolutiva de *Trypanosoma* de vertebrado (Sagui). Ao examinar os parasitos encontrados percebeu serem novos para ciência. Batizou-os, então, de *Trypanosoma cruzi*, em homenagem ao mestre. A nota anunciando a descoberta foi redigida em Manguinhos, em 17 de dezembro de 1908 e publicada na revista do Instituto de Doenças Tropicais de Hamburgo (Archiv für Schiffs-und Tropen-Hygiene), no início de 1909.

No dia 14 de abril de 1909, encontrou finalmente o parasito no sangue de uma criança febril. Em nota prévia publicada no Brasil Médico, uma das principais revistas médicas do país, anunciou a descoberta: “Num doente febricitante, profundamente anemiado e com edemas, com plêiades ganglionares engurgitadas, encontramos tripanossomas, cuja morfologia é idêntica à do *Trypanosoma cruzi*. Na ausência de qualquer outra etiologia para os sintomas mórbidos observados e, ainda de acordo com a experimentação anterior em animais, julgamos tratar-se de uma tripanossomíase humana, moléstia ocasionada pelo *Trypanosoma cruzi*, cujo transmissor é o *Conorrhinus sanguissuga*”.

Berenice, uma menina de dois anos, era o primeiro caso daquela que seria considerada, a partir de então, uma nova doença humana. O caso foi descrito na publicação nos Archiv für Schiffs-und Tropen-Hygiene e no Bulletin de la Société de Pathologie Éxotique.

Em 22 de abril, Brasil Médico publica a descoberta feita no norte de Minas. Na Academia Nacional Medicina, Oswaldo Cruz leu o trabalho escrito por Chagas. A imprensa, então, deu a notícia como um dos maiores feitos do Instituto de Manguinhos. Assim, em 22 de abril de 1909, descobriu, pela primeira vez, o parasito no sangue de um ser humano: uma menina de três anos, Berenice, em plena fase aguda.

Em julho de 1912, Carlos Chagas recebe o prêmio Schaudinn para o melhor trabalho sobre protozoologia como homenagem do Instituto de Doenças Tropicais de Hamburgo, na Alemanha. Mas, sua obra, não se restringiu à doença que um dia levaria seu nome. Foi o primeiro a descrever as lesões da medula óssea na malária, descobriu novos e importantes transmissores e revolucionou sua época ao afirmar que a malária era uma infecção domiciliar, o que provou posteriormente com o sucesso de suas campanhas. Ainda em 1912, Chagas realizou uma expedição ao vale do Amazonas, fazendo um completo levantamento médico-sanitário e das condições de vida dos habitantes daquela região.

Em 1917, assume a direção do Instituto de Manguinhos.

Em 1918, foi chamado pelo governo brasileiro para chefiar a campanha contra a epidemia de gripe espanhola, que assolava o Rio de Janeiro. Em seguida foi encarregado pelo presidente Epitácio Pessoa de elaborar um novo código para a Saúde Pública. O novo regulamento, uma segunda reforma sanitária, foi aprovado em 1919 e entrou em vigor a partir de 1920. Criava o Departamento Nacional de Saúde Pública (DNSP), em substituição à antiga Diretoria Geral de Saúde Pública (DGSP), responsável pelos serviços sanitários terrestres, marítimos e fluviais e pelos serviços de profilaxia rural.

Em 1925, foi nomeado professor da Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro. Lá, criou a cadeira de moléstias tropicais e estabeleceu as bases do estudo de higiene em nosso país.

Em 9 de novembro de 1934, morre Carlos Chagas, aos 55 anos.

Conclusão

Muitos foram os aspectos que, ao serem abordados na exposição, tiveram um impacto não esperado. A maneira de apresentação dos painéis, juntamente com material tridimensional manuseável, não fazia parte da tradição e dos hábitos dos funcionários do Instituto.

Como o espaço do Museu é ínfimo, constituído de duas pequenas salas, que dificultam a permanência de grande numero de pessoas, optou-se por fazer toda a exibição no espaçoso saguão do Edifício Central do Instituto. Esse local é o de maior trânsito de pessoas, durante todo o dia, não ficando limitado à abertura e ao fechamento do Museu. Houve muito interesse, tanto de servidores como de cidadãos que deambulavam pelo saguão.

Durante todo o período de exibição, pessoas que traziam material para análise, paravam para observar fotos, diagramas; ler os boxes explicativos dos painéis e interagir com as instalações tridimensionais que podiam ser tocados.

Percebeu-se um vivo interesse pela compreensão das duas enfermidades. Pessoas que se originavam do interior de São Paulo e de outros Estados, dirigiam-se ao Museu para fazer perguntas mais aprofundadas ou para dar depoimentos sobre pessoas de suas famílias, ou elas mesmas, que eram portadoras de uma ou outra enfermidade.

Dentro da compreensão museológica, museográfica e de marketing pode-se confirmar que exposições desse tipo, disponibilizadas ao público e apresentadas em locais amplos e abertos, com alta frequência de transeuntes são as que mais atingem essa clientela flutuante, levando o fruidor da exibição a um aprendizado direto, principalmente, com a possibilidade de interação com as peças apresentadas e com os museólogos que organizaram a mostra.

Devido ao exposto, outras exposições do mesmo tipo e abertas no mesmo local serão realizadas para que se forme a tradição de sempre enxergar novos conceitos e ensinamentos no saguão do Edifício Central do Instituto.

Agradecimentos

Carlos Roberto Elias e Valdevino Elias, pela confecção da casa de pau-a-pique. Sansão da Rocha Westphalen e Elisabeth Visone Nunes Westphalen pela preparação dos insetos. Luis Elói Pereira pelo empréstimo dos mamíferos

reservatórios taxidermizados. José Eduardo Tolezano e Helena Hilomi Taniguchi pela assessoria técnica e pelas fotos fornecidas para os pôsteres. Alberto Dück pela ajuda na montagem da exibição.

Referências Bibliográficas

- Instituto Adolfo Lutz – 100 anos do Laboratório de Saúde Pública. Edição Comemorativa. Ed. Letras e Letras, 1992. 280. Disponível em: http://www.cibersaude.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=16820.
- Revista Eaesc - Ex-Alunos da Santa Casa. mar/abril 2007; 29.

- Lacaz, CS. Adolfo Lutz. In: Vultos da Medicina Brasileira.1963; 7.
- _____. Adolpho Carlos Lindenberg. In: Vultos da Medicina Brasileira.1963; 32.
- _____. Carlos Chagas. In: Vultos da Medicina Brasileira.1963; 48.

Revisão, diagramação
Estação das Artes
www.estacaodasartes.com.br
(11) 3554-7074



Instituto Adolfo Lutz



ISSN 0073-9855

